

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ADENOSİN BİLEŞİK SERİSİNİN ANTI-TÜMÖR
İNHİBİTÖRÜ OLARAK ELEKTRON KONFORMASYON-
GENETİK ALGORİTMA(EC-GA)
YÖNTEMİ İLE QSAR İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Yücel YAZAR**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Emin SARIPINAR**

**Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

Temmuz 2008

KAYSERİ

Prof. Dr. Emin SARIPINAR danışmanlığında **Yücel YAZAR** tarafından hazırlanan “**Adenosin Bileşik Serisinin Anti-Tümör İnhibitörü Olarak EC Yöntemi İle QSAR İncelenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

25/07/2008

JÜRİ:

Başkan : Prof. Dr. Yahya GÜZEL

Üye : Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Üye : Doç. Dr. İlhan Özer İLHAN

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun **29/07/2008** tarih ve **2008/02-02** sayılı kararı ile onaylanmıştır.

29/07/2008


Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince geniş bilgi ve deneyimleri ile her konuda yol gösterici olan, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen sayın hocam **Prof. Dr. Emin SARIPINAR’ a** saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerinden dolayı TÜBİTAK çalışanlarına da sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmalarımda yardımcı olan Mustafa Yıldırım, Emilbek Sultanov ve Fatih Çopur'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında benden desteğini esirgemeyen, Lalehan AKYÜZ, Ebru KAYA, Kader ŞAHİN, Nazmiye GEÇEN ve Ersin YANMAZ’ a minnettarlıklarımı bildiririm.

Yüksek lisans eğitimim süresince emeği geçen bütün hocalarıma sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tüm çalışmalarım sırasında hayatım boyunca yanımda olan ve her konuda benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme minnettarlıklarımı bildiririm.

ADENOSİN BİLEŞİK SERİSİNİN ANTI-TÜMÖR İNHİBİTÖRÜ
ELEKTRON KONFORMASYON-GENETİK ALGORİTMA(EC-GA) YÖNTEMİ İLE
QSAR İNCELEMESİ

Yücel YAZAR

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2008

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emin SARIPINAR

ÖZET

Adenosin bileşik serilerinin “Elektron Konformasyonel -EC” metodu ile kantitatif aktivite tahmini yapılmıştır.

Bu metod ile Pha, aktiviteyi artıran (AG) ve aktiviteyi azaltan (APS) grupların parametrelerinin bir fonksiyonu olarak kantitatif aktivite hesaplanabilir ve moleküllerin biyolojik maddelerle etkileşim mekanizmasının açıklanmasına yardımcı olur.

Bu çalışmada konformasyonel analiz, elektronik yapı hesaplamaları ve matris karşılaştırması 21 bileşik için yapılmıştır. Bileşikler için elektron konformasyonel matrisi (ECMC) ESCP V1.0 programında hazırlandı. Farmakofor grubu belirlemek için elektron-konformasyonel alt matrisi (ECSA). Serisinde farmakofor grup N1, C2, N4, C7 ve C4 atomları olarak bulunmuştur. Bu bileşik serileri için bileşiklerin elektronik, geometrik ve fizikokimyasal özelliklerini gösteren parametreler Delphi dilinde yazılan EMRE V1.2 programında hazırlandı. Hazırlanan değişkenlerden yararlanarak Matlab programında genetik algoritma optimizasyon tekniği kullanılarak aktivite hesaplamaları yapıldı. Teorik olarak çıkan sonuçların deneysel sonuçlarla uyum içinde olduğu görülmüştür. Seride en aktif bileşik referans alınarak bileşiklerin aktivitesini en iyi veren parametreler bulunmuştur.

Adenosin serisinde en iyi sonuç 18 parametre (κ) değeri ile elde edilmiş ve R^2 değeri 1.0000 olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Farmakofor, QSAR, Elektron konformasyonel metod, Adenosin, Genetik algoritma, İlaç Tasarımı, Kanser.

QSAR STUDIES WITH EC-GA METHOD ON ADENOSINE

COMPOUNDS AS ANTI-TUMOR INHIBITOR

Yücel YAZAR

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M.Sc. Thesis, July 2008

Thesis Supervisor: Professor Dr. Emin SARIPINAR

ABSTRACT

Quantitative activity prediction for a series of Adenosine derivatives are revealed by “Electron Conformational” EC method.

Quantitative activity can calculate as a function of Pha, APS groups that decrease the activity and AG groups that increase the activity with this method and this method conduce to explain of the model of biological interaction of the molecule. The main features of this method is that in addition to revealing the activity by Pha groups, explains activity as set of atomic electronic features, superimposing in a special geometry and explains to 3D structure-activity relationship. This method allows for prediction of the parameters of the Pha, APS groups that decrease the activity and AG groups that increase the activity and offers a significant advance both in the understanding the model of biological interaction of the molecule and in the predicting its activity. In this study conformational analysis, electronic structure calculations and matrix comparisons are performed for the 21 Adenosine series. ETMC was prepared for each of these two series. ECSA was prepared in ESCP in order to determine Pha group. While N1, C2, N4, C7 and C4 atoms of Pha group are present in series. Parametres was prepared in EMRE V1.2 programme which was formatted in Delphi Programme by depending on Pha atoms. The activity calculation was made by using prepared parameter in Matlab programme by englaying genetic algoritma optimization. We that saw it was confirmed that the theorical results. The best result in Adenosine series was found by using A11 compounds as referance with 18 kappa level and R2 value was calculated as 1.0000

Keywords: Pharmacophere, QSAR, Electron conformational method, Adenosine, Genetic algorithm, Drug Design, Cancer.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

KABUL ve ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMA ve SİMGELER	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1.Amaç	1
1.2.İlaç Nedir?	2
1.2.1. İlaç Tasarımı.....	3
1.2.2. İlaç Geliştirme Aşamaları.....	3
1.2.2.1.Öncü Bileşiğin Bulunması	4
1.2.2.1.1. Hedef Seçimi.....	5
1.2.2.1.2. Etken Maddenin Bulunması.....	5
1.2.2.1.3. Etken Maddenin Optimizasyonu.....	8
1.2.2.2. Preklinik Geliştirme	9
1.2.2.3. Klinik Geliştirme.....	9
1.2.3. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı.....	10

1.3. Kanser	13
1.3.1. Kanserin Nedenleri	15
1.3.2. Türkiye ve Dünyadaki Kanser İstatistikleri	16

BÖLÜM 2

QSAR METOTLARI

2.1. SAR(Yapı Aktivite İlişkisi) ve QSAR(Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi)	19
2.1.1. SAR.....	19
2.1.2. QSAR	19
2.1.2.1. QSAR Teorisi.....	21
2.1.2.2. Klasik-QSAR Analizi.....	22
2.1.2.2.1. Hansch Analizi	24
2.1.2.2.2. Free- Wilson Analizi(2D-QSAR)	26
2.1.3. Yeni QSAR Metotları	27
2.1.3.1. Hologram QSAR (HQSAR).....	27
2.1.3.2. İnverse QSAR	29
2.1.3.3. Binary QSAR	30
2.1.3.4. 3D-QSAR	31
2.1.3.4.1. CoMFA	32
2.1.3.4.2. Aktif Analog Yaklaşımı	33
2.1.3.4.3. Moleküler Şekil Analizi(MSA).....	33
2.1.3.4.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil İçeren Analizler(CoMSIA).....	34
2.1.3.4.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi(CoMMA).....	35

2.1.3.4.6. EVA	35
2.1.3.4.7. WHIM	36
2.1.3.5. 4D-QSAR	36
2.1.3.6. Moleküler Modelleme ve QSAR	37
2.1.4. Biyoalıcı ile İlaç Molekülünün Etkileşim Mekanizması.....	38
2.1.5. QSAR Yöntemi Olarak Elektron-Konformasyonel Metot.....	40
2.1.6. Farmakofor Tanımlamasına Genel Bakış.....	40

BÖLÜM 3

YÖNTEM

3.1. Materyal	47
3.2. Metot	47
3.2.1. Konformasyon Analiz İşlemi	48
3.2.2. Kuantum Kimyası Hesaplamaları	51
3.3. Elektron Konformasyonel (EC-QSAR)	54
3.3.1. EC Metodu	54
3.3.2. Konformerlerin Belirlenmesi	54
3.3.3. ECMC Matrisleri Oluşturulması	55
3.3.4. EC-QSAR’da Farmakofor Tanımlama	56
3.3.5. APS ve AG.....	58
3.3.6. Aktivitenin Genel Formülü	59
3.3.7. Matris Karşılaştırması ile ECMC ve ECSA’nın Hesaplanması.....	65

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Adenosin Serisindeki Bulgular	68
4.2. Sayısal Optimizasyon.....	88
4.3. Aktivite Hesaplamasında Kullanılan Parametreler	89
4.3.1. Moleküler Parametreler.....	95
4.4. Serinin Bölünmeden Hesaplanmasında Elde Edilen Sonuçlar	102
4.5. Serinin Eğitim ve Test Seti Olarak Bölünerek Hesaplanmasından Elde Edilen Sonuçlar	104

BÖLÜM 5

SONUÇ

5.1. Adenosin Türevinin Teorik Aktivite Sonuçları	107
---	-----

KAYNAKLAR	123
-----------------	-----

ÖZGEÇMİŞ	132
----------------	-----

KISALTMALAR VE SİMGELER

QSAR	: Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
SAR	: Yapı Aktivite İlişkisi
3D-QSAR	: Üç Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
2D-QSAR	: İki Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
HQSAR	: Hologram Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
EC	: Elektron Konformasyonel
Pha	: Farmakofor
APS	: Aktiviteyi perdeleyici grup
AG	: Aktiviteyi artırıcı yardımcı grup
ETMC	: Elektron Topolojik Matris
CADD	: Bilgisayar destekli ilaç tasarımı
HTS	: Çok Sayıdaki Bileşiği Ayırma Yöntemi (High Throughput Screening)
CoMFA	: Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi
MSA	: Moleküler Şekil Analizi
CoMSIA	: Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi
CoMMA	: Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi
ECM	: Elektron Konformasyonel Matris
ECSA	: Elektron Konformasyonel Alt Matris

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Erkeklerde Görülen Çeşitli Kanser Türlerinin

Tüm Kanser Türlerine Oranı 16

Tablo 1.2. Kadınlarda Görülen Çeşitli Kanser Türlerinin

Tüm Kanser Türlerine Oranı 17

Tablo 4.1. Adenosin Serisinin Temel İskeleti ile Bu İskelete

Bağlı Olan Sustituentler 69

Tablo 4.2. En Basit Bileşiğe Göre Diğer Bileşiklerin Fonksiyonel

Grupları ve Atomlarının Düzenlenmesi Yani Moleküllerde

Birbirlerine Karşılık Gelen Atomlar 79

Tablo 4.3. Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler..... 90

Tablo 4.4. Serideki Bileşiklerin Konformer Sayıları ve Deneysel Aktiviteleri 99

Tablo 4.5. A11 Bileşiğinin Bütün Konformerlerinin Boltzmann Dağılımı ve

Bağlı Enerjileri 100

Tablo 4.6. A11 Bileşiğinin Eliminasyondan Sonra Kalan Konformerleri İçin

Boltzmann Dağılımı ve Bağlı Enerji Değerleri..... 102

Tablo 4.7. Çeşitli k_j Değerlerine Göre Elde Edilen Sonuçlar..... 102

Tablo 4.8. k_j Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri($-\log(\%inhibisyon)$)103

Tablo 4.9. Çeşitli k_j Değerlerine Göre Elde Edilen Sonuçlar..... 104

Tablo 4.10. k_j Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri($-\log(\%inhibisyon)$)105

Tablo 5.1. Adenosin Türevleri İçin 12 Kappaya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri.....	108
Tablo 5.2. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 12 k_j Değeri ve Moleküler Parametreler.....	110
Tablo 5.3. Adenosin Türevleri İçin 11 Kappaya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri.....	112
Tablo 5.4. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 11 k_j Değeri ve Moleküler Parametreler.....	113
Tablo 5.5. Çeşitli Kappa Değerlerine Göre Yapılan Hesaplama Sonuçları	116

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. İlaç Geliştirme Aşamaları	4
Şekil 1.2. Yeni İlaç Etken Maddesi Araştırma ve Geliştirme Yolları	7
Şekil 1.3. Kanserin Başlama ve Yayılma Evresi	14
Şekil 2.1. HQSAR’da Hologramların Ortaya Çıkarılması Ve Bu Hologramlardan Aktivitenin Değerinin Elde Edilmesi	29
Şekil 2.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik (Three Dimensional-ETMC TDETC	44
Şekil 3.1. Serbest Haldeki İlaç Molekülünün Konformerlerinin Ve Bağ Yapmış İlaç-biyoalıcı Yapısının Enerji Karşılaştırmaları	64
Şekil 3.2. Çalışmada İzlenecek Adımlar	66
Şekil 3.3. İlaç Tasarımında EMRE Yazılım Sisteminin Basamakları	67
Şekil 4.1. A11 Bileşiği İçin Top Çubuk ve Uzun Dolum Modelleri.....	70
Şekil 4.2. A11 Bileşiğinin Konformerlerinin Üst Üste Çakışması	72
Şekil 4.3. Alt Matris Hesabının Ara Yüz Şekli.....	73
Şekil 4.4. A11a Bileşiğinin ETMC Matrisi	74
Şekil 4.5. A11b Bileşiğinin ETMC Matrisi	75
Şekil 4.6. En Pasif A13m Bileşiğinin ETMC Matrisi.....	76
Şekil 4.7. En Pasif A13l Bileşiğinin ETMC Matrisi.....	77
Şekil 4.8. Adenosin Türevleri İçin Aktif Fregmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris)ve Farmakofor Crubu Temsil Eden Atomlar	80
Şekil 4.9. EMRE V1.2’nin Parametrik Sekmesinin Kullanıcı Arayüzü	82

Şekil 4.10. Genetik Algoritmanın Akış Şeması	85
Şekil 4.11. Genetik Algoritmanın Aşamaları.....	87
Şekil 4.12.a. A11 Bileşiğinde O3 Atomunun C4-N4-N1 Düzlemine Uzaklığı.....	91
Şekil 4.12.b. A11 Bileşiğinde O3 Atomunun C4-C7-C2 Düzlemine Uzaklığı	92
Şekil 4.13.a. A13 Bileşiğinde O3 Atomunun C4-N4-N1 Düzlemine Uzaklığı.....	93
Şekil 4.13.b. A13 Bileşiğinde O3 Atomunun C4-C7-C2 Düzlemine Uzaklığı	94
Şekil 4.14. A11 Bileşiğinde O3-C10 Atomları ve C4-N4-N1 Düzlemi Arasındaki Açısı	95
Şekil 5.1. Adenosin Türevleri İçin Aktif Fregmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris) ve Farmakofor Grubu Temsil Eden Atomlar	107
Şekil 5.2. 12 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin R^2 Grafiği.....	111
Şekil 5.3.a. 11 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Eğitim Seti İçin Çizilmiş R^2 Grafiği.....	114
Şekil 5.3.b. 11 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Test Seti İçin Çizilmiş R^2 Grafiği.....	115
Şekil 5.4. 7 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	117
Şekil 5.5. 9 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	117
Şekil 5.6. 10 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	118
Şekil 5.7. 12 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	118
Şekil 5.8. 13 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	119
Şekil 5.9. 14 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	119
Şekil 5.10. 15 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	120

Şekil 5.11. 17 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	120
Şekil 5.12. 18 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	121
Şekil 5.13. 20 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği	121

1. BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Amaç

Modern kimyanın en önemli problemlerinden biri; belirli bir hastalığa iyi geldiği bilinen bir ilacın biyoahıcılar ile etkileşim mekanizmasının nasıl olduğunu açıklayamamasıdır [1]. Son 20 yıl boyunca bu alandaki çalışmalar “yapı-aktivite ilişkisi” (Structure-Activity Relationship, SAR) ve “nicel yapı-aktivite ilişkisi” (Quantitative SAR, QSAR) başlığı altında yayınlanmıştır. Başlangıçta QSAR metodu bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerine göre aktiviteyi açıklamıştır. Fakat son zamanlarda biyo moleküller üç boyutlu olarak ele alınıp elektronik özellikleriyle aktivite değerleri bulunmuş ve bu çalışmalar 3D QSAR olarak adlandırılmıştır. QSAR yaklaşımlarındaki tüm gelişmeler bilgisayar kullanımı ile olmuştur. Pratik bakımdan oldukça uzun ve zor olan böyle bir problemin çözümü; deneysel olarak belirli bir aktivite gösterdiği bilinen bileşikleri birbiri ile karşılaştırarak aktivitelerine neden olan ortak yapıdaki sorumlu fragmenti bulmakla olur. Böylece molekülün yapı-aktivite ilişkisinde, aktiviteden sorumlu olan temel üç boyutlu elektronik özelliği belirlenmiş olur [2-4].

Yapı-aktivite incelemeleri bilgisayar modelleriyle birleştirildiğinde bileşik serisi içerisindeki aktiviteden sorumlu, molekül içinde bulunan ortak ve genel bir parçanın elektronik ve geometrik özelliği aktif fragment veya farmakofor (Pharmacophore, Pha) olarak tanıtılır. Her bir molekül için deneysel aktivite verileri hesaplanan veriler ile uyum göstermesi ölçüsünde başarılıdır. Aktivitede rol alan temel iskelete göre yeni moleküllerin dizayn edilerek sentezlenmesi ve mevcut olan moleküllerin biyolojik

aktivitelerinin tahmini için elektron konformasyonel (EC-QSAR) metodu ile çıkartılan sonuçlar kullanılır.

Bu çalışmadaki amaç EC-QSAR metodu uygulaması ile adenosin bileşik serilerinin, Pha grup ile bu gruba etki eden aktiviteyi artıran AG (Auxiliary Group) ve aktiviteyi azaltan APS (Anti Pharmacophore Shielding Group) gruplarını belirlemektir.

1.2. İlaç Nedir?

İlaçların büyük çoğunluğu spesifik biyolojik reseptörlerin aktivitelerini hafifleten ve onların etkileşimlerini, bağlanmalarını düzenleyen küçük moleküllerdir. Reseptörler, hayatın korunması için gereken çeşitli fonksiyonları yerine getiren diğer moleküllerle etkileşen ve bağlanan proteinlerdir. Proteinler; hormon reseptörleri, hücre-sinyal reseptörleri gibi hücre-yüzey reseptörleri, enzimler ve diğer fonksiyonel proteinlerin çok büyük bir dizisinden oluşurlar. İlaçların en önemli rolü bazı tıbbi problemlere çare bulmak amacı ile bu reseptörlerin fonksiyonlarını düzenlemektir[5].

İlaçlar genellikle aşağıda verilen üç aşamada çalışır:

- Bakteri, parazit yada virüslerin biyolojik fonksiyonlarına müdahale eder.
 - Antibiyotiklerin tümü bu kategoriye girer
 - HIV ilaçları, insan bağışıklık sistemi virüsünde proteaz yada reverse transcriptase enzimlerinin fonksiyonunu kesmek için halen kullanılır.
- Bakteri, parazit yada virüslerin sistemlerimiz ile etkileşimini engellemek
- Biyolojik fonksiyonlarımızın artmasına müdahale eder.
 - Aşılar bağışıklığımızı artırır.
 - İnsülin, diyabetik hastalar için kandaki şeker düzeyini kontrol etmeye yardım eder.
 - Kanserin ilaçla tedavisi anormal hücre gelişimini durdurmaya çalışır.

1.2.1. İlaç Tasarımı

İlaç tasarımı, daha önceden tanımlanmış yapı-aktivite ilişkilerinden yararlanarak, farmakolojik aktivitesi öngörülebilir potansiyel ilaç moleküllerinin tasarlanmasıdır. Yeni ilaç geliştirmenin amacı, var olanlardan daha güçlü, daha az toksik ve yan etkileri en aza indirilmiş, yararlı terapötik bileşikler geliştirmektir[6].

Ayrıca ilaç ve biyoaktif arasındaki bağlanma etkileşimini geliştirmek ve ilacın biyoaktif için seçiciliğini arttırmaktır. Daha güçlü ve daha seçici bağlanma için ilaç, bağlanma bölgesine göre uygun büyüklükte olmalı ve bağlanma için gerekli fonksiyonel gruplara sahip olmalıdır. Bu fonksiyonel gruplar birbirlerine göre doğru pozisyonda olmalı ki hepsi aynı zamanda bağlanabilsinler. Mevcut ilaçların hemen hemen hiç biri ideal özelliklere sahip olmadıklarından, araştırma kurumlarında ve ilaç endüstrisinin araştırma geliştirme laboratuvarlarında, sürekli ilaç olabileceği düşünülen bileşiklerin sentezi yapılmakta ve bunlar belirli farmakolojik testlere tabii tutulmaktadır. İlaçların seçici, etkisi geçici ve doza bağlı olmalı gibi özelliklere sahip olmalıdır.

Organizmanın ve ilaç molekülünün organizmadaki yolculuğunun ve hedef moleküllerle etkileşiminin karmaşıklığı düşünüldüğünde, ilaç tasarımının ve ilaç tasarımında başarının ne kadar zor olduğu kolaylıkla görülebilir. Farmasötik amaçlarla sentezi yapılan otuz bine yakın bileşikten ancak birkaç tanesi çeşitli aşamaları geçip, klinik incelemelere kadar gelebilmekte ve bunlardan sadece bir tanesi ilaç olarak kullanıma girmesi 12–15 yıl sürmektedir.

Bilgisayarlı ilaç tasarımı teknikleri ile daha önceleri tek bir ilaç bile dizayn edilememesine rağmen, bu tekniklerin gelişmesi uzun sürmemiştir. Günümüzde bütün dünyada farmakoloji ve biyoteknoloji şirketleri bilgisayar destekli ilaç tasarımı tekniklerini kullanmaktadır[7].

1.2.2. İlaç Geliştirme Aşamaları

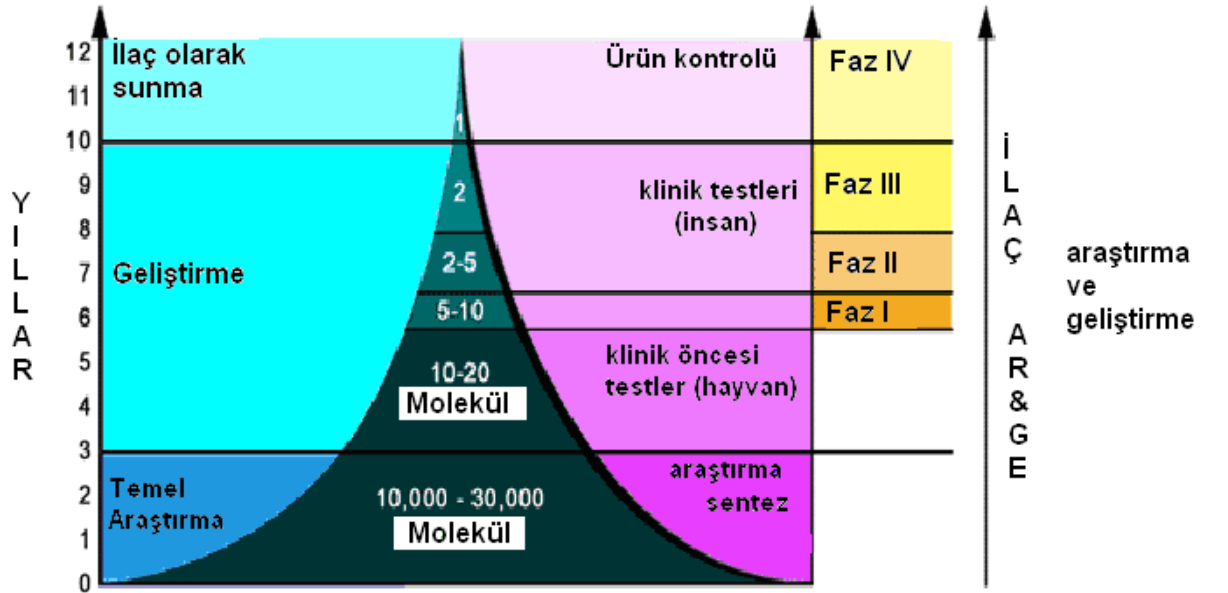
İdeal ilaç geliştirmedeki amaç daha etkili, daha az toksik, daha az yan etkili olan ilaçlar elde etmektir. Yeni ilaç geliştirilmesi, uzun, zahmetli ve oldukça yüksek harcamaları gerektiren bir süreçtir. Son zamanlarda yapılan bir hesaplama göre, yeni ilaç geliştirilmesi yaklaşık 12-15 yılı ve 500-800 milyon USD harcamayı gerektirmektedir.

Sürecin bu kadar uzun olması, yeni ilaç geliştirilmesinin zorluğu hakkında ipucu vermektedir.

İlaçların geliştirilmesi süreci üç bölümde incelenmektedir:

- Etken maddenin bulunması
- Preklinik geliştirme
- Klinik geliştirme

Şekil 1.1. de moleküllerin sentezinden itibaren ilaç olarak piyasaya sürülene kadar geçirdiği aşamalar verilmiştir[8].



Şekil 1.1. İlaç Geliştirme Aşamaları

Şekil 1.1 den görüldüğü gibi 10 000-30 000 molekülden ancak bir tanesi ilaç olarak piyasaya sürülebilmektedir. Bunun için ileri düzeyde hücre dışı (invitro) ve hücre içi (invivo) olmak üzere pahalı ve zaman alıcı çalışmaların yapılması gerekir.

1.2.2.1. Öncü Bileşiğin Bulunması

Öncü bileşiğin bulunması aşağıda verilen üç başlık altında incelenmektedir.

1.2.2.1.1. Hedef seçimi

Keşif ve ilaç geliştirme safhalarından önce, geliştirilmesi düşünülen ilacın kullanılabileceği hastalık/hastalıklar/bulgular ile ilgili yeterli bilgi edinilmesi gereklidir. Bu çalışmalar sırasında hastalığın nedenleri, gelişimi, görülme sıklığı, topluma olan ekonomik yükü ilgili kurumlarla araştırılır.

Hastalığın nedenleri ve gelişimine yönelik araştırmalar, geliştirilmesi düşünülen ilaçla ilgili planların yapılmasına yardımcı olmaktadır. Bu bilgiler ışığında geliştirilecek ilaçla ilgili önemli stratejik kararlar alınabilir. Böylece bu ilacın aşağıdaki amaçlardan hangisine daha uygun olacağına karar verilir.

1. Hastalığın nedeninin elimine edilmesi,
2. Hastalık nedeni ile bozulan fizyolojik fonksiyonların yerine konulması,
3. Hastalığın olası yan etkilerinin önlenmesi,
4. Hastalığın belirtilerinin azaltılması.

Geçmişte, ilaç geliştirme programları genellikle in vivo yanıtın ölçülmesi temeline dayanıyordu. Günümüzde hedef proteinleri belirlemeden ilaç geliştirme programına başlanması nadirdir. Bunun için de, biyolojik yanıt mekanizmasının çok iyi bilinmesi gerekmektedir.

1.2.2.1.2. Etken maddenin bulunması

Biyokimyasal hedef belirlendikten sonraki basamak etken bileşenin bulunmasıdır. Kimyasal sentez yolu ile ya da doğal kaynaklardan kazanılan, insan ve hayvan organizmasındaki hastalıkların engellenmesinde, geriletilmesinde, iyileştirilmesinde ve tanısında kullanılan, kimyasal yapısı ve özellikleri saptanmış olan maddelere ilaç etken maddesi denir.

Etken maddenin bulunması için ilk yaklaşım; hedef proteinin klonlanması; daha sonra hedef proteinin fonksiyonel aktivitesini ölçecek testlerin geliştirilmesidir. Yeni etken bileşen; bilinen moleküllerin modifikasyonu, doğal kaynakların rasgele taranması, biyolojik mekanizmaların ve kimyasal yapının anlaşılması, biyoteknoloji ve

peptid/protein oluşturan genlerin klonlanması ile bulunur. Ancak, günümüz farmasötik endüstrisinde kombinatorial kimya teknolojisi kullanımı eğilimi artmaktadır.

Bu teknoloji, reaksiyon ortamına konan çok sayıda farklı kimyasal maddenin karıştırılarak rasgele kombine olmaları sonucu, çok sayıda (binlerce) yeni kimyasal maddenin sentez edilmesidir. Kombinatorial kimya; yüksek girip çıktılı tarama yöntemleri (high throughput) ile birlikte kullanılmaktadır. Bu; maddelerin otomatize tarama sistemleri kullanılarak farmakolojik etki taramalarından geçirilmesidir.

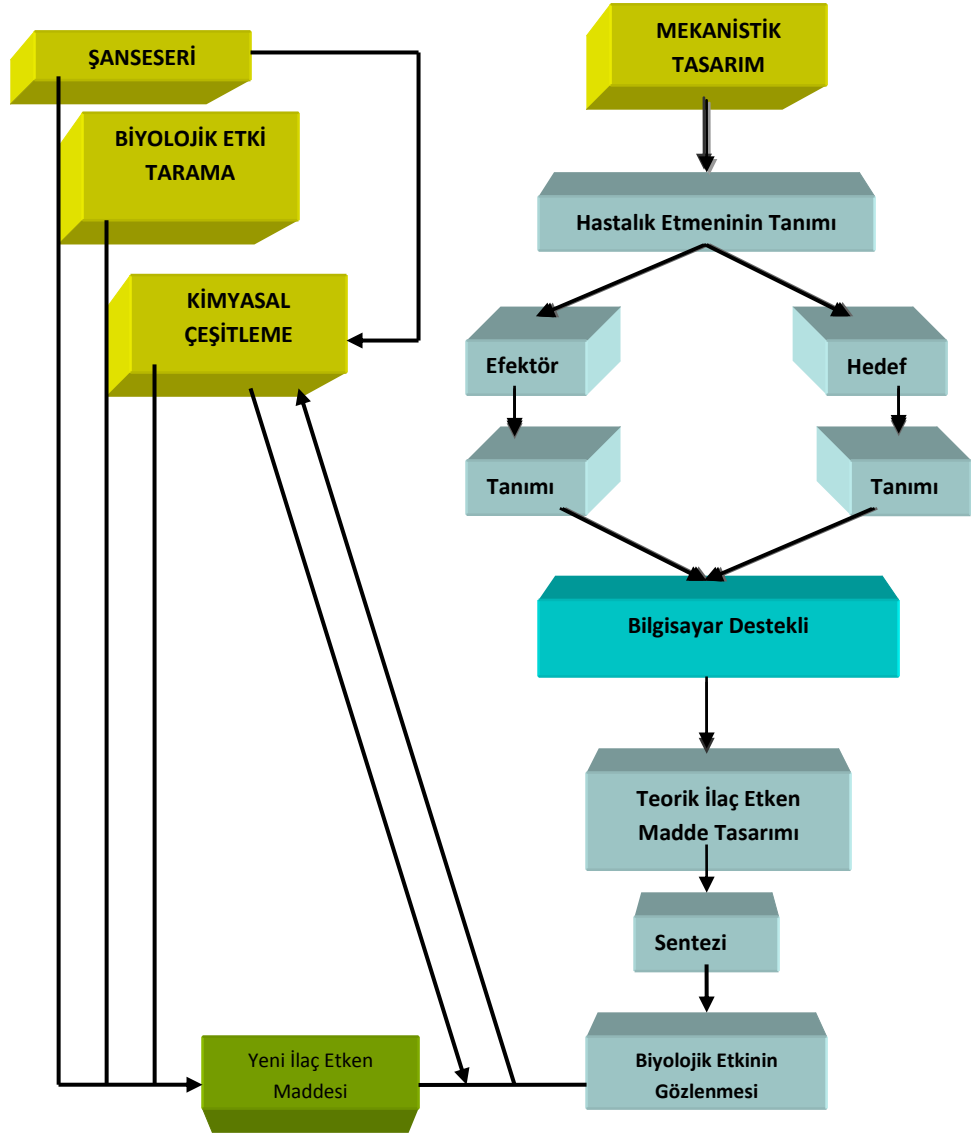
Şekil 1.2' de görüldüğü gibi ilaç etken madde tasarımı dört farklı őkilde yapılmaktadır.

Şans eseri bulma

Biyolojik tarama

Kimyasal  eőitleme

Mekanik tasarım



Şekil 1.2 Yeni İlaç Etken Maddesi Araştırma ve Geliştirme Yolları

İlaçlar bazen **şans eseri ya da sezgi yardımı** ile bulunabilir ancak ilaçların büyük kısmı hastalıkları tedavi etmek amacı ile yürütülen organize araştırmalar sonucu bulunmaktadır.

Biyolojik etki tarama yöntemi; Bu yöntemin amacı, araştırılan kimyasal yapılar arasında etkili olan bileşiği açığa çıkarmaktır. Bu yöntemde hedefin yapısı ve hastalığın mekanizması aydınlatılamaz ve çok fazla zaman, emek ve masraf kaybına neden olabilmektedir.

Kimyasal çeşitleme yöntemi; etkisi bilinen bir ilaç etken maddesi üzerinde etki değişikliklerini gözlemek amacıyla grup ya da atomlar üzerinde modifikasyonlar yapmaktır. Hedefin yapısı ile ilgili pek fazla bir bilgiye gereksinim duyulmamaktadır.

Mekanistik ilaç tasarımı; yönteminde ise tüm çalışmalar moleküler düzeyde gerçekleştirilir. Hastalıkla ilgili etmenin ve hastalık-hedef-efektör üçgenindeki ilişkilerle ilgili bilgilerin araştırılıp, tanımlanarak açıklığa kavuşturulması ve elde edilen verilerin yeni ilaç etken maddesi bileşiklerin tasarım çalışmalarında kullanılması esasına dayanır. Bu ilişkiler, kantitatif yapı-etki ilişkileri (Quantitative-Structure Activity Relationship, QSAR) analiz teknikleri kullanılarak tanımlanır ve daha etkin moleküler yapılara ulaşmak için önermeler elde edilir. Günümüzde ideal ilaç tasarım yöntemidir[9].

1.2.2.1.3. Etken Maddenin Optimizasyonu

Bu adımda amaç, tarama ile bulunmuş olan etken maddenin, hedef üzerindeki potansiyelini arttırmaktır. Yani molekülün aktivitesini artıracak ve istenmeyen etkilerin iyileştirilmesini sağlayacak moleküler modifikasyonların yapılmasıdır. Ayrıca, selektivite, metabolik stabilite gibi özelliklerini de en elverişli hale getirmektir. Bu faz sonunda, bir veya daha fazla sayıda araştırma ilacı daha ileri geliştirme basamakları için hazırlar.

Bu amaç için önce molekülün farmakofor kısmı bulunur. Bu kısımda yapılan değişikliklerle molekülün reseptörle daha kuvvetli bağlar yapması sağlanır. Daha sonra etken madde için yapı-aktivite ilişkisi geliştirilerek uygun özelliklere sahip ilaç molekülüne ulaşılmaya çalışılır.

Etken maddenin optimizasyonunda kullanılan önemli yollar aşağıda verilen başlıklar altında toplanabilir.

- Moleküler modifikasyon
- Latent ilaç (ön ilaç, hedeflendirilmiş ilaç) tasarımı
- Yumuşak (soft) ilaç tasarımı
- Kantitatif yapı aktivite ilişkisi

Etken maddenin bulunması ve optimizasyonu için kullanılan yöntemleri kesin olarak ayırmak mümkün değildir. Çünkü bazı yollar her iki amaç içinde kullanılabilmektedir

1.2.2.2. Preklinik Geliştirme

Elde edilmiş olan etken kimyasal maddelerin, ilk olarak mutlaka klinik olmayan değerlendirme aşamalarından geçirilmeleri gerekmektedir. Klinik öncesi güvenlik değerlendirmeleri; hedef organlarda toksik etkilerin tanımlanması, doza bağımlılığı, maruz kalım süresi ile ilişkisi ve geri dönüşümlü olup olmadığının araştırılmasını içermektedir.

Preklinik çalışmalar farmakolojik testler, farmakokinetik incelemeler, toksisite deneyleri, kimyasal ve farmasötik geliştirme olmak üzere dört başlık altında incelenmektedir:

1.2.2.3. Klinik Geliştirme

Uygun bulunan etken maddeler klinik geliştirmede sağlıklı ve hasta gönüllüler üzerinde belirli protokollere göre incelenir. Klinik denemelerin amacı; araştırılan yeni ilacın terapötik etki sınırları içerisindeki maksimum etkinliğini, güvenliğini ve aynı amaçla kullanılmakta olan ilaçlara göre üstünlüğü olup olmadığını kanıtlamaktır.

Araştırılan Yeni İlacın (**Investigational New Drug-IND**) klinik denemeleri dört dönemde (fazda) toplanmıştır[10].

Faz I denemelerinde, ürünle ilgili güvenilirlik verileri toplanır, doz aralığı saptanır, tolerans ve farmakokinetik özellikleri incelenir. Bu faza ait çalışmalar genellikle terapötik amaçlı değildir ve sağlıklı gönüllüler ile yürütülmektedir. Ancak toksik olduğu bilinen ilaçlar için (örn; sitotoksik ilaçlar) sağlıklı gönüllüler yerine, hastalar çalışmalara alınır. Maksimum tolere edilebilen doz bu faz çalışmaları ile saptanır.

Faz II denemelerinde, ilacın etkinliği hastalarda belirlenir, yan etki profili araştırılır ve doz-cevap verileri toplanır. Etkililik ve güvenlik inceleme dönemi de denir. Yürütülen bu fazda ayrıca, ilacın kısa süreli kullanımı ile ortaya çıkan en sık yan etkiler ve riskler saptanır. Bu faz çalışmalarının en önemli amacı, faz III çalışmalarında kullanılacak dozu ve doz intervallerini saptamaktır.

Faz III denemelerinde, ürünün klinik etkinliği ve yan etkileri daha geniş bir hasta popülasyonunda değerlendirilir. Faz III klinik çalışmaları, IND nin ruhsatlandırılmadan önce insanlara uygulanmasının son evresidir. Bu çalışmalar ile IND nin

ruhsatlandırılması için gerekli bilgiler sağlanır. Faz III çalışmaları ayrıca, doz-cevap ilişkisini, ilacın geniş popülasyonda ve hastalığın farklı dönemlerinde kullanımını veya diğer ilaçlarla kombinasyonunu da araştırır. Bu fazın ana amacı "etkinliğin kanıtlanması ve yan etkilerin izlenmesidir.

Faz IV denemeleri, ürün ilaç olarak kullanılmaya başlandıktan sonra yapılan klinik çalışmalardır. Bunlara genel olarak "postmarketing surveillance-pazarlama sonrası gözetim " çalışmaları adı verilir. Bu çalışmaların ana amacı "uzun süreli güvenilirlik" verilerinin toplanmasıdır. Ruhsatlandırma öncesi yapılan çalışmalar ile saptanamayan ve nadir görülen yan etkilerin ortaya çıkarılması; bilinen reaksiyonların görülme sıklığının gözlenmesi; risk faktörlerinin veya riskin ortaya çıkışını kolaylaştıran faktörlerin saptanması; piyasada bulunan diğer ilaçlar ile karşılaştırılması, uzun süreli kullanımda etkinliği ve hastanın yaşam kalitesi üzerine etkisini ve tedavide kullanılan klasik ilaçlar ile maliyet-etkililik analizlerinin yapılabilmesi amacıyla gerçekleştirilmektedir[10].

1.2.3. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı

1950 lerde başlayan bilgisayar teknolojisi, el hesap makineleri kullanılarak çok zor bir şekilde yapılan kuantum mekanik hesaplamalarını, shördinger denkleminin bilgisayar ile çözülmesi sonucunda çok kolay hale getirmiştir. Ancak o dönemlerde sadece birkaç atomlu küçük moleküllere uygulanabilen ab initio yöntemler ile hesaplamalar yapılyordu. Daha sonrasında ise semiempirik moleküler orbiral teori ile çok büyük moleküller için de hesaplamalar yapılmaktadır. Aynı zamanda fizikokimyacılar tarafından geliştirilen empirik modelleme metodları ile büyük biyolojik sistemlerin üç boyutlu konformasyonel davranışları ve yapıları daha net olarak açıklanmıştır. Moleküler mekanik metod olarak adlandırılan bu metot ab initio ve semiempirik metotlardan çok daha hızlıdır. Ayrıca 1960 ve 1970 lerde fizikokimyacılar ilaç tasarımında, bileşiklerin lipofilik veya hidrofilik karakterini hesaplayan metodlar geliştirmişlerdir. Böylece günümüzde bilgisayar destekli ilaç tasarımı, (**Computer-Assisted Drug Design, CADD**) olarak adlandırılan ve ilaç geliştirme çalışmaları için kullanılan bir teknik ortaya çıkmıştır[11]. CADD ilaç olarak kullanılan biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin optimizasyonu, tasarımı ve araştırılması aşamalarını içeren bilgisayar destekli tekniklerin tümünü kapsamaktadır. İlk bilgisayar destekli, yapı bazlı ilaç tasarımı metotları 1980 lerin başında ortaya çıkmış olup ilk olarak Hammet eşitliği

kullanılmış ve zaman içerisinde gelişim göstermiştir. Günümüzde ise gelişimi halen devam etmektedir[12].

Herhangi bir bileşiğin yapısı ve kimyası denel yöntemlerle belirlenebilir, ancak hesaplama yolu ile öngörünün yapılabilmesi çok yararlıdır ve pek çok uygulama alanı bulmuştur. Örneğin farmakolojide yeni ilaçların geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kimyacılar bilgisayar kullanarak sentezden önce ilaçların yapıları hakkında ön bilgiye sahip olarak ilaçta istenen özellikleri belirleyip bu özelliklere uygun bileşiklerin sentezlerini gerçekleştirirler. Bu da para ve zaman kaybını önlemektedir.

Bilgisayar-destekli ilaç tasarım yöntemleri, deneysel yöntemler kullanılarak bir ilacın keşfinden ticari olarak satılmasına kadar geçen sürenin ve maliyetinin düşürülmesi amacıyla son yıllarda hem ilaç firmaları hem de üniversitelerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Bilgisayar-destekli ilaç tasarımında, **ligand-temelli (ligand-based** etki gösteren moleküllerin yapısından reseptör yapısının yorumlanması) ve **yapı-temelli (structure-based** bilinen reseptör yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması) olmak üzere iki temel yöntem bulunmaktadır. Eğer ilacın vücut içinde etkileştiği hedef protein yapısı bilinmiyorsa, QSAR (quantitative-structure activity relationship) gibi yöntemler kullanılırken, “Hedef protein” yapısı biliniyorsa Moleküler dinamik(MD), simulasyon (zamana karşı konformasyon analizi) ve **Docking** (protein-ligand kilitlenmesi) yöntemleri kullanılmaktadır.

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı, ile orijinal bileşiklerin tasarlanması, kombinatoryal kimya metotları (çok sayıda bileşiğin etkin ve hızlı bir şekilde beraber sentezlenmesini amaçlayan metot) ve HTS yöntemleri (high throughput screening, milyonlarca bileşiğin aktivitesinin denenmesi için kullanılan çok hızlı bir yöntem) ile yeni kimyasal ilaç olabilecek moleküllerin belirlenmesi, doğal kaynaklı bileşiklerin etkilerinin yine HTS teknikler kullanılarak kısa zamanda milyonlarca molekül arasından ayrıştırılabilmesi bu güne kadar kullanılan konvansiyonel (klasik) metotlara göre çok daha hızlı ve ucuz olmaktadır[13].

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile ilaç özelliği gösteren yeni moleküllere ulaşmak üzere kullanılan önemli yöntemler aşağıdaki gruplar altında toplanabilir.

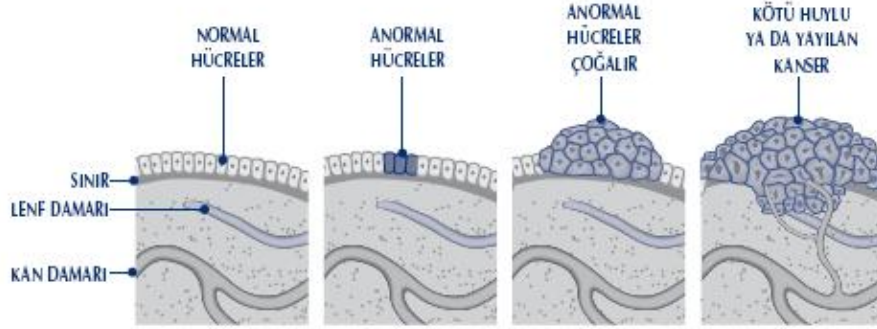
- a. Moleküler Modelleme:** Moleküler grafik veya konformasyon analizi olarak da adlandırılan bu yöntemde klasik ve kuantum fizik eşitlikleri ile moleküllerin yapılarını sayısal ve görsel olarak gösteren bir bilim dalıdır. Bilgisayarlı kimya programlarında geometrik özellikler (bağ mesafesi, bağ açısı, torsiyon açısı), enerji parametreleri (oluşum enerjisi, aktivasyon enerjisi vb.), elektronik özellikler (dipol moment, yük, iyonizasyon potansiyeli, elektron affinitesi), spektroskopik özellikler (titreşim frekansları, kimyasal kayma) ve sterik özellikler (hacim, yüzey alanı, difüzyon, viskozite vb.) gibi parametrelerle moleküller üç boyutlu yapıda tanımlanır. Bu yöntemle, etken madde veya analog tasarımı (etken maddeye yapısal olarak benzemesine rağmen farmakolojik etkisi kendi özelliklerinin sonucu olan bileşik tasarımı) yapılarak nasıl bir biyolojik aktivite göstereceğine karar verilir. X-ışınları kristalografisi gibi yöntemlerle ilacın moleküler şekli veya konformasyonu araştırılır[14].
- b. Kalıp Tanıma (pattern recognition):** Kalıp Tanıma, Makine Öğrenmesi'nin bir alt dalı olup, Görüntü İşleme'de girdi olarak alınan işlenmemiş bilgiyi inceleyip gelen verinin kategorisine göre işleme tabi tutmasıdır. Kalıplar ölçümlerin veya gözlemlerin genel gruplarını çok boyutlu uzayda tanımlanan uygun noktalarda sınıflandırır[15].
- c. Kümeleme analizi (Cluster Analysis);** n boyutlu veri matrisinde yer alan ve doğal gruplamaları kesin olarak bilinmeyen birimleri, değişkenleri ya da birim ve değişkenleri birbirleri ile benzer olan alt kümelere ayırmaya yardımcı olan yöntemler topluluğudur. Birimleri, değişkenler arası benzerlik ya da farklılıklara dayalı olarak hesaplanan bazı ölçülerden yararlanarak homojen gruplara bölmek amacı ile kullanılır. Kümeleme analizi karmaşık oluşumların bulunduğu hemen hemen tüm bilim alanlarında yararlanılan bir yöntemdir. Kalıp Tanıma ve Kümeleme analizi yöntemlerinin her ikisi de birçok parametre ile karakterize edilmiş çok sayıda bileşik içinden en uygun bileşiğe ulaşmak için gelişmiş istatistik ve bilgisayar yöntemlerinin kullanıldığı sayısal tekniklerdir[16].
- d. Reseptör Uyum veya Reseptör Tanımlama Yöntemleri:** Çeşitli modern spektroskopik yöntemlerle reseptörle ilaç arasındaki ilişkilerin ve bu ilişkilerde hangi etkilerin fazla olduğu konularının incelenmesi ile reseptörle en iyi şekilde uyum sağlayacak molekülün tasarlanmasında elde edilen bilgilerin kullanılmasıdır.

1.3. Kanser

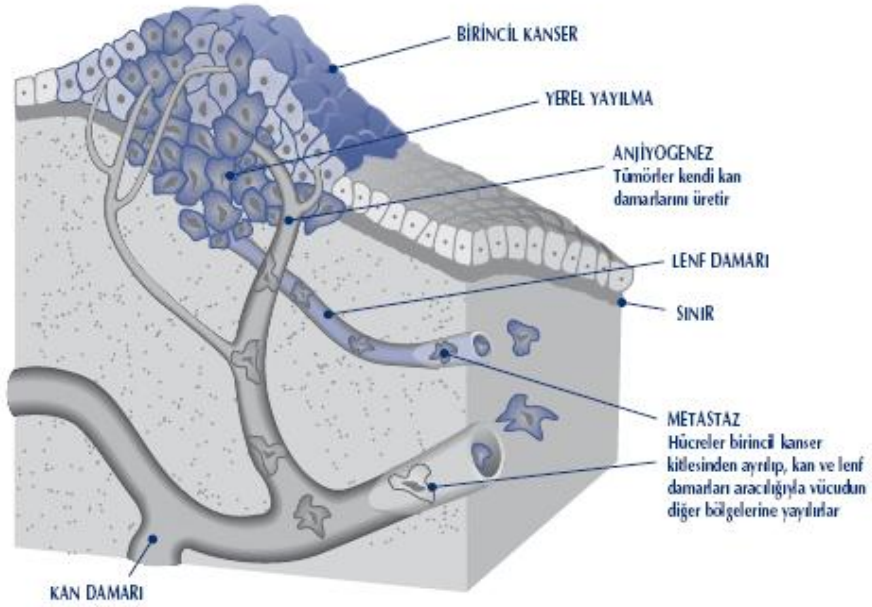
Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunu durumundadır. Ölüm nedeni olarak, kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Batı toplumlarında her yıl 250-350 kişiden biri kansere tutulmaktadır. 60 yaşın üzerindeki grupta ise kanser sıklığı çok artmakta 300 kişide 4-5 civarına yükselmektedir. Ülkemizde kesin istatistikler bulunmamakla birlikte oranın bunun yarısı kadar olduğu tahmin edilmektedir. Yurdumuzda en sık görülen kanserler erkeklerde akciğer, prostat, kalın barsak, rektum, mide ve pankreas; kadınlarda meme, akciğer, kalın barsak, rektum, serviks, over, mide ve pankreas kanserleri olarak sıralanabilir. Deri kanseri sıklığı her iki cinsten de yüksek olmakla birlikte, habis melanom dışındaki deri kanserleri tedaviye iyi cevap verdiklerinden ölüm oranı çok düşüktür.

Kanser, bazı etkilerle değişime uğramış hücrelerin, gerek yerel ve gerek uzak noktalarda kontrolsüz olarak çoğalıp büyümelerinin sonucu oluşan habis hastalıklar grubudur. Normalde hücreler belli bir kontrol altında, ihtiyaca göre bölünerek çoğalırlar. Hücreler bir taraftan programlı ölüm ya da "apoptoz" denen olay ile yok olurken, diğer taraftan da büyüme faktörlerinin etkisiyle çoğalır. Büyüme faktörleri normalde DNA'daki çeşitli genlerin etkisiyle oluşan proteinlerdir. Bu genler mutasyona (değişime) uğrayarak hücrelerin aşırı büyümesine sebep olurlarsa, o zaman kanser oluşur ve bu genlere de "onkogen" denir. Kanser genleri ya da onkogenler 70'li yılların sonlarına doğru bulunmağa başlanmış ve günümüze kadar çok aktif araştırmaların konusunu oluşturarak, kanserin daha iyi anlaşılmasına, tanı ve tedavinin geliştirilmesine hizmet etmişlerdir. Onkogenleri oluşturan mutasyonlar, karsinogen maddelerin, virüslerin ve X ışınlarının etkisiyle meydana gelir. Kanser bir organda oluşuktan sonra, uzak doku ve organlara da metastaz dediğimiz yerleşmeler yapar ve genel olarak hastalar metastazlar nedeniyle kaybedilir. Hızlı ilerleyen kanserlerde metastaz erken, daha iyi gidişli kanserlerde ise metastaz geç oluşur. Metastaz oluşumu tesadüften çok, kanser hücrelerinin bazı organlara kolay yerleşmelerini sağlayan özelliklerine bağlıdır. Örneğin, kolon kanserleri karaciğere, prostat kanserleri kemiğe metastaz yapmayı tercih etmektedir. Burada, kanserli dokuda kan akımı, damar hücrelerinin aktivasyonu gibi faktörler rol oynamaktadır.

Şekil 1.3.' de kanserin başlangıç ve yayılma evresi görülmektedir[17].



(a)



(b)

Şekil 1.3. (a) Kanserın başlama ve (b) yayılma evresi

Kanser çok önemli bir hastalıklar grubudur. Tedavisi ve tanısı bir çok uzmanlık dallarının işbirliğini gerektirmektedir. Tedavisi güçtür. Erken tanı önemlidir. Cerrahi ve radyoterapi lokal tedavi yöntemleri olup, onların arkasından kemoterapi ve immünoterapi gibi sistemik tedaviler uygulanmaktadır. Kemoterapi sitotoksik ilaçlarla yapıldığı için özel bir ihtisas konusudur. Etkili dozlarda, fakat hastayı yan tesirlerden koruyarak yapılması gereklidir.

Moleküler biyolojinin verdiği yeni bilgiler kanser tedavisi için umut vaad etmektedir. Onkogenleri ve onların ürünlerini baskılayan özel maddeler halen araştırılmaktadır. Anti-onkogenlerin de tedaviye katılmaları için çalışılmaktadır.

Kanserde belki tedaviden daha önemli olan husus kanserin önlenmesidir. Önlemede karsinojenik (kanseri yapıcı) maddelerden uzak durmak, temiz ve sağlıklı yaşamak ve uygun bir diyet uygulamak gibi hususlara uyulması kanser sıklığını rahatça yarıya indirebilir. Gelecekte kemoprevansiyon yani kimyasal maddelerle kanseri önlemek de yararlı olabilecektir[18].

1.3.1. Kanser Nedenleri

Kanserin sebebi henüz kesin olarak bilinmemektedir. Kanser hastalığı için iki grup risk faktörü vardır. Kanser için risk faktörleri yaşam şekillerine, yaşa, cinsiyete ve aile öykülerine bağlı olarak değişir. Bir başka risk grubu ise çevresel faktörlerdir. Çevresel faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Sigara alkol kullanımı,
- Uzun süre ve tehlikeli saatlerde güneş altında kalma,
- Aşırı dozda röntgen ışınına maruz kalma,
- Bazı kimyasal maddeler (katran, benzin, boya maddeleri, asbest v.b.)
- Bazı virüsler
- Hava kirliliği
- Radyasyona maruz kalma,
- Kötü beslenme alışkanlığı

1.3.2. Türkiye ve Dünyada ki Kanser İstatistikleri

Kanser, Türkiye'de 1982 yılında 1593 sayılı Umumi Hıfzısıhha Kanunu'nun 57. maddesi gereğince "bildirimi zorunlu hastalıklar listesi"ne alınmış olmasına rağmen ülkemizde gerçek kanser insidansı hiç bilinmemektedir. Sağlık Bakanlığı 1983'te tüm ülke için "pasif kanser kayıt sistemi" kurmuş fakat bildirim dayalı bu sistemde beklenenin dörtte biri kadar bilgi elde edilmiştir. Bu nedenle ülke çapında ama güvenilirliği olmayan veri toplamak yerine, coğrafi sınırları ve nüfusu belirlenen bir alanda aktif olarak toplanacak verilerle bir kanser kayıt sistemi oluşturulması amacı ile 1992 yılında "Kanser Kayıt ve İnsidans" projesi başlatılmış ve Trabzon, Edirne, İzmir, Ankara, Adana, Antalya, Bursa, Diyarbakır, Sivas ve Erzurum'da kanser kayıt merkezi kurulmuştur.

Türkiye'de çeşitli kaynaklara göre erkeklerde ve kadınlarda en sık görülen 5 kanser türünün tüm kanser türlerine oranı tablo 1.1. ve 1.2.'de gösterilmiştir:

Tablo 1.1. Erkeklerde görülen çeşitli kanser türlerin tüm kanser türlerine oranı

KANSER BÖLGESİ	TÜM HASTAHANELER (94) ¹	SAĞLIK BAKANLIĞI ²	KIDEM ³
Bronş-Akciğer	27.7	25.7	38.6
Mide	8.5	8.3	5.2
Lenfoma	7.4		
Prostat	6.3	4.0	
Larinks	6.4	6.0	6.9

¹1994 yılında tüm hastanelerde yatan hasta kayıtlarına göre

²Sağlık Bakanlığı Kanseri savaş dairesinin 1996 yılı verilerine göre

³İzmir Kanser İzlem ve Denetleme Merkezi 1993-1994 yılı verilerine göre

Tablo 1.2. Kadınlarda görülen çeşitli kanser türlerinin tüm kanser türlerine oranı.

KANSER BÖLGESİ	TÜM HASTAHANELER (94)¹	SAĞLIK BAKANLIĞI²	KIDEM³
Meme	14.9	23.3	26.7
Uterus	10.7		6.5
Bronş-akciğer	7.2	3.9	
Mide	6.8	6.7	
Lenfoma	6.7		

¹1994 yılında tüm hastanelerde yatan hasta kayıtlarına göre

²Sağlık Bakanlığı Kanserle savaş dairesinin 1996 yılı verilerine göre

³İzmir Kanser İzlem ve Denetleme Merkezi 1993-1994 yılı verilerine göre

Dünyada kanser hastaları ile ilgili sayım yapma ve veri toplama isteği 1728 yılında Londra'da genel nüfus sayım idaresince yapılan bir çalışma ile başlamış ve bu tarihten itibaren çeşitli ülkelerde çeşitli çalışmalar ile devam etmiştir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan standardizasyon çalışmaları ve 1948 yılında yayınlanan ICD (International Classification of Diseases)'nin 6. Baskısı sonrasında kodlama sisteminin çeşitli ülkelerde benimsenmesi ile 1992 yılı itibariyle 52 ülkede 266 adet toplum tabanlı kanser kayıt sistemi oluşmuştur. Bu ülkelerdeki çalışmalar düzenli olarak "5 Kıtada Kanser İnsidansı" (Cancer Incidence in Five Continents) isimli Dünya Sağlık Örgütü yayınında özetlenmektedir. En son olarak 50 ülkeden 150 toplum tabanlı kanser kayıt sisteminin verileri 1997'de yayınlanmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü mortalite verilerini ve ulusal kanser kayıtlarından elde edilen insidans hesaplarına göre 38 Avrupa ülkesi için 1995 yılı tahminlerini 2.6 milyondur, yeni kanser vakası sayısı, dünya kanser yükünün dörtte birinin üzerindedir. Kanserden ölüm sayısı ise yaklaşık 1.6 milyondur. Erkeklerde en yüksek insidans hızı, yüzbinde 420.9 ile Avusturya dışında batı Avrupa ülkelerinde, en düşük hız ise kuzey Avrupa ülkelerinde, yüzbinde 356.6 ile İsveç'te, 377.8 ile İngiltere'de görülmektedir. Erkeklerdeki duruma zıt olarak kadınlarda en yüksek insidans hızı kuzey Avrupa ülkelerinde (315.9), özellikle Danimarka'da (396.2) görülmektedir. Mortalite hızları ise doğu Avrupa ülkeleri, özellikle Macaristan'da en yüksektir. Akciğer kanseri Avrupa'da

1995 yılında en sık görülen kanser türüdür (377,000 vaka). Erkeklerde en sık görülen kanser türleri akciğer (%22), kolorektal (%12) ve prostat (%11); kadınlarda ise meme (%26), kolorektal (%14) ve midedir (%7). Erkeklerde akciğer kanseri (%29); kadınlarda ise meme kanseri (%17) ölüm sebepleri arasında birinci sıradadır[19].

2. BÖLÜM

QSAR METOTLARI

2.1. SAR (Yapı Aktivite İlişkisi) ve QSAR (Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi)

2.1.1. SAR

SAR terimi bileşiklerin kimyasal yapıları ile biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri arasındaki ilişkinin kalitatif olarak belirlenmesi anlamına gelir. Yani bir molekül aktif veya inaktif şeklinde sınıflandırılır. Bileşiklerin yapı-aktivite ilişkisi açıklanırken, genellikle fonksiyonel grupların etkisi, stereokimyasal yapısı, büyüklüğü ve şekli dikkate alınır. Yapı-aktivite ilişkisine diğer katkılar ise kimyasal reaktivlik, elektronik etkiler, rezonans ve indüktif etkilerdir [20].

2.1.2. QSAR

QSAR bir molekülün farmakolojik, toksikolojik ve biyolojik aktivitesinin kantitatif tahminini yapar. Bu metot, benzer bileşik serisinden ortaya çıkan yapı ve aktivite bilgilerini temel alır [21].

QSAR tarihinin başlangıç noktası kesin değildir. 1860 lardan 1960 lara kadar yüzyılı aşkın bir süre içinde gelişim göstermiştir. Moleküller arasındaki ilişkiyi ve biyolojik özellikleri gösteren ilk çalışma 1863'te Strasburg Üniversitesi'nde A.F.A. Croso tarafından sunulmuştur. A.F.A. Croso, alkollerin sudaki çözünürlükleri azaldıkça memeliler üzerindeki toksik etkisinin arttığını gözlemiştir. 1868'de A. Crum Brown ve

T. Fraser alkaloidlerin biyolojik etkileri üzerinde çalışmışlar ve genel yapı-aktivite ilişkisini formüllendirerek fizyolojik aktivitenin kimyasal bileşimin yani konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak değiştiğini bulmuşlardır (Eşitlik 2.1.).

$$\Phi = f(C) \quad (2.1)$$

Çoğu organik bileşiğin yapısı henüz bilinmediği için bu ilişkiyi kullanarak aktiviteyi diğer örnekler üzerinde açıklamakta yetersiz kalıyorlardı fakat bugün ilaçlardaki her atom ile ilgili ayrıntılar bilinmektedir. (çoğu durumda bağlanma bölgesinin üç boyutlu yapısı). Bu etkileşimi, farklı kimyasal moleküller ile etkileşim potansiyeli, üç boyutlu yapısı, yüzey özellikleri ve fizikokimyasal özellikler gibi farklı yollar kullanarak açıklayabiliriz. Fakat Eşitlik 2.1 bunu açıklamakta yetersiz kalmaktadır. $\Delta\Phi$ ile ΔC , ya yapısal parametreler (Free-Wilson analizi) yada moleküler özelliklerdeki değişim göz önüne alınarak (Hansch analizi) doğrudan ilişkilendirilebilir. Bu ilişki aşağıda verilmiştir.

$$\Delta\Phi = f(\Delta C) \quad (2.2)$$

Aynı zamanda Crum Brown ve Fraser kendi genel yapı-aktivite formüllerini geliştirmişler ve B.J. Richardson, alkollerin uyuşturucu aktivitelerinin molekül ağırlıkları ile orantılı olduğunu göstermiştir. 1893'te, C. Richet eterler, aldehytler, alkoller, ketonlar ve diğer bileşiklerin toksik etkilerinin sudaki çözünürlükleri ile ilişkili olduğunu gözlemlediler. 1890'larda, Marburg Üniversitesinden H.H. Meyer ve Zürih Üniversitesinden C.E. Overton, birbirinden bağımsız olarak çalışarak nötral organik bileşiklerin toksik etkisinin lipofilik ve su fazı arasındaki partisyon katsayısına bağlı olduğuna dikkat çektiler [22].

Louis Hammett'in çalışmalarına kadar QSAR'ın gelişmesi aslında çok yavaştı. Ancak Louis Hammett, organik asit ve bazların elektronik özellikleri ile denge sabiti ve reaktivlikleri arasında ilişki kurarak, benzoik asit ile çeşitli türevlerinin disosiasyonunu

incelemişler ve bağlı olan substituentlerin aktiviteyi nasıl etkilediğini açıklayarak, QSAR'ın gelişimine büyük katkılarda bulunmuştur [23].

Uyuşturucu, bakteriyel, hemolitik ve toksik özellikler ile lipofilite arasındaki ilişkiler yüzyılın başından beri bilinmesine rağmen, 1964'te Free-Wilson metodu ve Hansch analizi ile ilgili yayınlar sonucunda, daha açık bir şekilde ortaya konulmuştur [24].

2.1.2.1. QSAR Teorisi

Bir bileşiğin farklı yapısal ve kimyasal özelliklerinin, kendi biyolojik aktivitesine doğrusal toplam katkısının göz önüne alınmasına dayanır. Burada biyolojik aktivitenin belirli fizikokimyasal özelliklere dayanarak taşınma ve bağlanma ile lineer ilişki içerisinde olduğu ispatlanmıştır.

Bu durum, bazı araştırmalar, Örneğin; de novo ilaç dizaynı programı LUDI (2.3), tarafından ispat edilmiştir. Buna ek olarak, Free Wilson ve Hansch analizleri birleştirilerek yapılan çalışmaların sonucunda bu görüş desteklenmiştir [25].

$$\Delta G_{\text{baglanma}} = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{hb}} + \Delta G_{\text{iyonik}} + \Delta G_{\text{lipo}} + \Delta G_{\text{dönme}} \quad (2.3)$$

Öteleme ve dönme entropilerinin toplam kaybı; $\Delta G_0 = + 5,4 \text{ kJmol}^{-1}$

İdeal nötral hidrojen bağı; $\Delta G_{\text{hb}} = - 4,7 \text{ kJmol}^{-1}$

İdeal iyonik etkileşim; $\Delta G_{\text{iyonik}} = - 8,3 \text{ kJmol}^{-1}$

Lipofilik (veya hidrofobik) bağlantı; $\Delta G_{\text{lipo}} = - 0,17 \text{ jmol}^{-1} A^{0.2}$

Ligandın her dönebilen bağına ait entropi kaybı; $\Delta G_{\text{dönme}} = + 1,4 \text{ kJmol}^{-1}$

Eşitlik (2.3), serbest bağlanma enerjisi $\Delta G_{\text{baglanma}}$, bütün öteleme ve dönme serbestlik derecesi kayıplarını açıklayan ΔG_0 sabiti, nötral ve iyonik hidrojen bağı etkileşimleri ile ligand-protein arasındaki hidrofobik (veya lipofilik) etkileşimlerin yapıya bağlı enerji terimleri olan ΔG_{hb} , ΔG_{iyonik} , ΔG_{lipo} ve ligandın iç dönme serbestlik derecesi kaybını

gösteren $\Delta G_{\text{dönme}}$ enerji terimi ile ilişkilidir. Eşitlik (2.3) enerji değerlerinin geniş bir aralığına sahiptir: 45 farklı ligand-protein kompleksine ait $\Delta G_{\text{bağlanma}}$ değerleri -9 ila -75 kJmol^{-1} arasında değişir. Bu değerler $2,5 \cdot 10^{-2}$ M ve $4 \cdot 10^{-14}$ M arasındaki bağlanma sabitlerine karşılık gelir. Matematiksel modelden, ligand bağlanma sabitlerinde yaklaşık 1,4 log birimlik hataya karşılık gelen standart sapma değeri $7,9 \text{ kJmol}^{-1}$ olduğu bulunmuştur [25].

Serbest enerji ΔG ve denge sabiti K yada oran sabiti k (k_b = birleşme sabiti, k_a = ligand-reseptör kompleks ayrışma sabiti) arasındaki termodinamik ilişkiden dolayı, bu değerlerin logaritması ile bağlanma affiniteleri aralarında bir bağlantı kurulabilir.

$$\Delta G = -2,303 RT \log K = -2,303 RT \log \frac{k_b}{k_a} \quad (2.4)$$

Belirli biyolojik etkiye karşılık gelen molar konsantrasyonun logaritması, $\log C$, moleküler özellikler yada fizikokimyasal özellikler ile ilişkilendirilebilir. Bu fizikokimyasal özellikler Eşitlik 2.4 de verildiği gibi serbest enerji ile ilişkisi olan denge sabitleridir. Normal olarak konsantrasyonun tersinin logaritmasının değeri, $\log(1/C)$, aktifliği fazla olan bileşiklerde daha yüksektir.

Başlangıçta QSAR olarak ortaya çıkan bu metot zamanla gelişim göstererek aşağıda verilen yeni QSAR metotları şeklinde uygulama alanı bulmuştur.

2.1.2.2. Klasik-QSAR Analizi

Aktivite ve toksisite de fizikokimyasal özelliklerin etkisinin araştırılması 19. yy a dayanır. 1935 de Hammett sabiti, σ , organik asit ve bazların reaktivliği ile denge sabitleri arasındaki bağıntıyı açıklamak için kullanılmıştır. 1969 da Hansch tarafından yapılan yarı deneysel çalışmada ise QSAR için yeni bir dönem başlamıştır. QSAR da çeşitli biyolojik aktiviteyi tahmin etmek için oktanol-su dağılma katsayısı ($\log P$) hidrofobik özellik olarak tanımlanmıştır. $\log P$ veya hidrofobik özelliğin diğer ölçümleri toksikolojide ve ilaç araştırmalarında halen geniş çapta kullanılmaktadır. Aktivite ile fizikokimyasal özellikler arasındaki ilişkiyi kuran Hansch tipi yaklaşım çok değişkenli regresyon metodunu kullanarak enzim inhibisyonu, metabolizma, ligand reseptör bağlanması, toksiklik gibi problemlere çözüm getirmek için uygulanır. QSAR daki temel çalışmalar Hansch tarafından yapılmıştır.

2D-QSAR analizi kantitatif ilişkileri elde etmek için lineer regresyon tekniklerini kullanır. 2D-QSAR tekniklerinin çoğunun istatistiksel verileri şüphelidir. Ligand ve reseptör arasındaki başlangıç etkileşimi üzerinde durur. 2D-QSAR, 3D-QSAR kadar açık değildir. Genellikle yapı temelli farmakofor tanımlaması yapar ve reaksiyon bilgileri, yapısal özelliklerin tahmini ile kimyasal bilgiler üzerinde durur [26].

2D-QSAR da kullanılan moleküler parametreler genellikle üç grupta toplanır.

- Moleküler bağlanma gibi iki boyutlu parametreler
- Moleküler yüzey alanı gibi üç boyutlu parametreler
- LogP gibi fizikokimyasal özellikler

2D-QSAR için parametreleri yapısal, topolojik, geometrik, elektrostatik, kuantum kimyasal ve termodinamik parametreler olarak sınıflandırabiliriz. En basit tanımlayıcı, geometrik veya elektronik yapıya bakmadan moleküler yapıyı yansıtan yapısal parametredir ki bu parametre atom sayısı, moleküler ağırlık, bağ sayısı ve H bağı sayısı ile ilgilenir. Topolojik parametreler, moleküldeki iki atom çifti arasındaki bağ bilgilerini kapsar. Geometrik parametre, yapının üç boyutlu koordinatlarını gerektiren, molekül yüzey alanı, moleküler yoğunluk ve hacim gibi özellikleri içine alır. Kuantum kimyasal parametreler ise moleküllerin elektronik özellikleri hakkında bilgi sağlayan HOMO ve LUMO gibi tanımlayıcılardır. Termodinamik parametreler, ilk olarak Hansch analizinde kullanılan molar refraktivite, oluşum ısısı, hidrofobik özellik ve oktanol ve sudaki serbest solvatasyon enerjisidir.

2D-QSAR da kullanılan moleküler parametreleri, ya deneysel metotlardan (X-Ray, NMR gibi) yada moleküler mekanik (MM) hesaplamalarından elde etmek etkili bir yoldur. Ancak, HOMO ve LUMO gibi bazı parametreler kuvantum mekaniksel (QM) hesaplamaları gerektirir. Son yıllarda Tong, moleküler parametrelerin aynı seti için, MM de hesaplanan geometri ile QM de hesaplanan geometrileri kullanarak elde ettiği sonuçları QSAR modelinde karşılaştırmıştır. QM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçları MM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçlarından daha iyi olduğu görülmüştür [27].

2.1.2.2.1. Hansch Analizi

1964 de, C. Hansch, T. Fujita, tarafından yapılan çalışmada farklı fizikokimyasal parametreler kullanılarak substitue fenoksiasetik asit türevlerinde biyolojik aktivite ve lipofilite değişimleri incelenmiştir. QSAR daki başlıca ilerleme de Hansch ın bu çalışmasında biyolojik aktivitenin serbest enerji terimleri ile bağlantılı olduğunu ispat etmesinden sonra olmuştur. Bu yaklaşım başlangıçta lineer serbest enerji ilişkisi, LFER, olarak adlandırılmış daha sonra termodinamik yaklaşım olarak değiştirilmiş ve aşağıdaki eşitlik ile açıklanmıştır.

$$\text{Log}1/C = a\pi + b\sigma + cE_s + \dots + \text{sabit} \quad (2.5)$$

C; biyolojik aktiviteden sorumlu olan bileşiğin molar konsantrasyonu, π ; substituentin hidrofobik katkısıdır ve $\log P_X / P_H$ olarak verilir. σ ; substituentin Hammett elektronik katsayısıdır ve $\log K_X / K_H$ olarak verilir. E_s ; Taft sterik parametresi ve a, b, c ise uygun katsayılarıdır. Bu açıklamada P_X ve P_H sıra ile substitue olmuş ve olmamış bileşiklerin oktanol ve su fazındaki dağılma katsayısını ifade ederken K_X ve K_H ise sıra ile meta yada para substitue olmuş veya substitue olmamış benzoik asit türevlerinin 25 °C deki iyonizasyon sabitleridir.

Korelasyon modeli tek bir parametre veya çeşitli parametrelerin kombinasyonu kullanılarak ortaya çıkarılabilir. Bu parametreler π , $\log P$, σ gibi deneysel verilerden yada $\text{Clog}P$, LUMO ve HOMO enerjisi ve yük gibi teorik olarak hesaplanan değerlerden elde edilebilir.

Hansch ve grubu, hidrofobik ilaçlar ve biyolojik aktivite arasında parabolik bir ilişkinin olduğunu ortaya çıkararak QSAR analizinde kullanmışlardır [28]. ilacın n-oktanol/su sistemindeki dağılma katsayısı (hidrofobisite) ve biyolojik aktivite arasında ikinci dereceden bir ilişki olduğunu aşağıdaki formül ile göstermişlerdir.

$$\text{Log } 1/C = a(\log P)^2 + b(\log P) + c\sigma + \dots + k \quad (2.6)$$

P = n-oktanol/su dağılma katsayısı, σ = Hammett elektronik parametresi, a,b,c = regresyon katsayıları, k = sabit terim. Bu eşitlik ilacın taşınması ve bağlanma affinitesi kavramlarından geliştirilmiştir. İlacın enzim veya reseptör gibi biyolojik aktif bölgelere

bağlanması lipofilite, elektronik ve diğer serbest enerji özelliklerine bağlıdır ki buna bağlanma affinitesi de denir.

Bu eşitlik taşıma ve bağlanma kavramının her ikisini de içeren matematiksel modeldir. Eşitlikte farklı fizikokimyasal özelliklerin bu kombinasyonu ve lineer olmayan lipofilite bağıllığı için parabolik terimin ortaya çıkmasına ek olarak, Hansch ve Fujita X substituentlerinin lipofilite parametresi olan π yi tanımladılar, ($\Pi_X = \log P_{RX} - \log P_{RH}$) yaklaşık 30 yıl önce Hammett aynı anlama gelen elektronik parametre σ yi açıklamıştır. Hammett çalışmalarında referans olarak substitue benzoik asitlerin iyonizasyon sabitlerini kullanarak aşağıdaki matematiksel bağıntıları önermiştir [29].

$$\rho\sigma = \log K_{RX} - \log K_{RH} \quad (2.7)$$

$$\rho\sigma = \log k_{RX} - \log k_{RH} \quad (2.8)$$

ρ belirli reaksiyonlar için özel olan reaksiyon sabiti ve σ substituentlerin elektron verici veya çekici özelliklerine bağlı bir parametre olan elektronik Hammett sabitidir. K denge sabiti ve k aromatik bileşiklerin reaksiyon hız sabitidir.

Doğal olarak bu eşitlik ilaç tasarımı ve biyolojide de kullanılabilir. Bu durumda biyolojik aktivitenin Hammett σ değerleri ile ilişkisi yada biyolojik Hammett eşitliği olarak tanımlanır.

$$\log \tau_i - \log \tau_{Et} = \alpha\beta_i \quad (2.9)$$

τ_i ve τ_{Et} , biyolojik aktivite değerleri, α ; biyolojik aktivitenin belirli bir çeşidi için geçerli olan bir sabit ve β_i ; X_i substituentinin etil grubuna göre daha az veya daha fazla olan sabit aktivite katkısı. Eşitlik özel olmayan bir biyolojik aktiviteyi açıklamasına rağmen genel bir model olarak kabul edilemez.

Özellikle laboratuvar çalışmalarında biyolojik aktiviteyi farklı şekilde açıklama yeteneğine ve esnekliğine sahip olması nedeni ile Hansch analizi oldukça avantajlıdır [22]. Bir Hansch analizi yapmak isteyen araştırmacı, her bir satırın bir bileşiği, her bir sütunun ise moleküllerin değişik özelliklerini gösterdiği bir tablo hazırlar. Genellikle analiz edilen bileşiklerin ortak özellikleri bir noktada kesişirler. Bu yüzden moleküllerin biyolojik aktivitelerindeki farklılıklar molekülün temel iskeletine eklenen

sübstitüentlerin değişen özelliklerinden kaynaklanır. Sübstitüentlerin LogP veya pKa gibi özellikler üzerine etkileri tablolarda mevcuttur. Regresyon analizi, moleküllerin hangi fiziksel özelliklerinin, biyolojik aktivitelerine en iyi şekilde nasıl etki ettiğini açıklar.

2.1.2.2.2. Free-Wilson Analizi (2D-QSAR)

1964 te Free ve Wilson genel yapısal özellikleri açıklamak için yeni bir matematiksel model geliştirdiler. Bu model substituentlerin bulunması veya bulunmaması durumunda biyolojik aktivite korelasyonunu kullanan bir regresyon tekniğidir [30].

Bu modelin esası, herhangi bir konumdaki substituentin, temel molekül yapısına biyolojik katkısının olduğu ve her bir substituentin bu katkısının, molekülde varolan diğer gruplardan bağımsız olduğu varsayımına dayanır [31]. Free Wilson analizinde biyolojik aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\log 1/C = \sum a_i + \mu \quad (2.10)$$

a_i biyolojik aktivite değerlerine X_i substituentlerinin grup katkıları ve μ daha çok substitue olmamış analog olarak adlandırılan referans bileşiğin hesaplanmış biyolojik aktivite değeridir. Free Wilson analizi uygulama yapmak için daha kolaydır. Biyolojik aktiviteyi açıklamakta fizikokimyasal özelliklere ihtiyaç duymaz. Genel substituentlerin varlığı veya yokluğunu göstermek için 1 yada 0 değerlerini kullanır. Başka bir deyişle, Free Wilson analizi Hansch analizinden daha sınırlıdır [22].

Free-Wilson analizi bir QSAR modeli ortaya çıkarmak için bileşiklerin kimyasal yapısının ve biyolojik aktivite değerlerinin bilinmesini gerektirir. Free-Wilson analizi için aşağıda verilen şartlar geçerlidir [29].

Bunlar;

1. Bileşiğe bağlı substituentin regresyon katsayısı değerlerini bulmak için bileşik kimyasal olarak modifiye edilir.
2. Farklı bir substituent bağlandığında yeni bileşen için tahminler yapılır
3. Molekülün üç boyutlu yapısını göz önüne almaz, substituenti tek noktada tayin eder bu nedenle istatistiksel sonuçlar için belirsizdir.

4. Çoğu serbestlik derecesi her substituenti açıklamada ihmal edilir

Free-Wilson analizi, biyolojik aktivite için önemli olan fizikokimyasal özelliklerin farkını görmede sık sık kullanılır.

Fujita ve Ban 1971 de Free-Wilson modelinin eksikliklerini gidermek için, aktivitenin logaritmasını kullanarak yeni bir eşitlik geliştirdiler. Bu eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\text{Log } A / A_0 = \sum G_i X_i \quad (2.11)$$

A ve A_0 sıra ile substitue olmuş ve olmamış bileşiklerin aktivite değeri, G_i i substituentinin aktivite katkısının logaritmasıdır ve X_i ise substituent bulunduğunda 1, bulunmadığında 0 olan bir değerdir. Substituentlerin bir seti için eşitlik aşağıdaki şekli alır.

$$\text{Log } A = \sum G_i X_i + \mu \quad (2.12)$$

burada μ sabit bir terimdir.

Geliştirilmiş bu modelin başlıca avantajları şunlardır.

1. Yapısal matriks biçiminin değiştirilmesine ihtiyaç duymaz

Eşitlik için hiçbir sınırlama yoktur.

2. Her bir pozisyondaki grup katkıları referans bileşiğe dayanır.

Sabit terim μ en küçük kareler yöntemi ile hesaplanır ve substitue olmamış bileşik için değeri teorik olarak bulunur. Bir bileşiğin dışarıda bırakılması yada hesaba katılması grup katkıları değerini önemli derecede etkilemez.

Bu avantajlar nedeni ile Fujita-Ban metodu Free-Wilson metodundan daha iyidir [28].

2.1.3. Yeni QSAR Metotları

2.1.3.1. Hologram QSAR (HQSAR)

Son yıllarda Tripos tarafından ortaya çıkarılan Hologram QSAR fragment bazlı bir QSAR yaklaşımıdır [27].

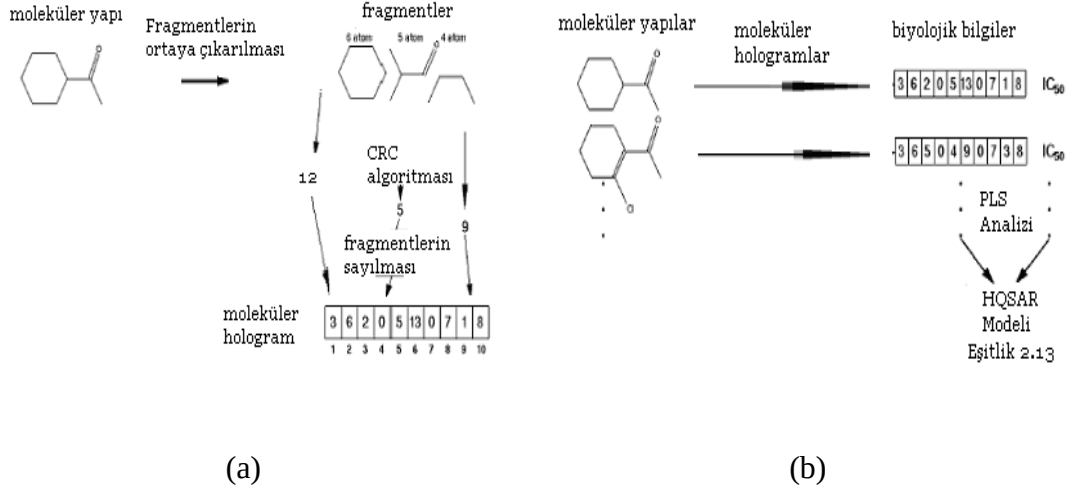
HQSAR, yapı-aktivite ilişkisini ortaya çıkarmak için kullanılan fizikokimyasal parametrelere ve üç boyutlu yapıya ihtiyaç duymayan yeni bir tekniktir. Bu metot biyolojik aktivite ve molekülün iki boyutlu yapısı arasındaki bağıntıyı temel alır [28].

HQSAR da, seçilen bileşik serisindeki her bir molekül yapısal fragmentlerine ayrılır, daha sonra bu fragmentler CRC (cyclic redundancy check) algoritması kullanılarak özel bir sayı olarak tayin edilir. Bu sayılar sabit uzunluktaki bir sayı dizisinde depolanarak düzenlenir. Burada elde edilen diziler moleküler hologram olarak bilinir ve moleküler hologram dizileri, tanımlayıcılar olarak kullanılır. Bu tanımlayıcılar moleküllerin kimyasal ve topolojik bilgilerini tahmin etmek için kullanılır. QSAR modeli PLS regresyon tekniği kullanılarak geliştirilmiş ve “leave-one-out” cross-validation tekniği kullanılarak geçerli kılınmıştır. Aktivite ile hologram dizileri arasındaki korelasyon, PLS ile elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak geçerli olmuştur.

$$A_i = C + \sum_{l=1}^L X_{il}C_{il}$$

Bu eşitlikte, A_i , i bileşiğinin aktivitesi, C bir sabit, X_{il} , l dizisinde yada i pozisyonunda bileşiğin moleküler hologramını işgal eden değer, C_{il} , PLS tekniğinden türetilen diziler için bir katsayı ve L ise hologram uzunluğudur.

Aşağıda verilen ilk şekilde moleküler hologramların ortaya çıkarılma prosedürü ve ikinci şekilde ise bu hologramların kullanılarak aktiflik değerlerinin elde edilmesi gösterilmiştir [32].



Şekil 2.1. HQSAR da Hologramların Ortaya Çıkarılması ve Bu Hologramlardan Aktivite Değerinin Elde Edilmesi.

HQSAR ve Free-Wilson metodu gibi diğer fragment bazlı QSAR teknikleri arasındaki temel fark, üst üste çakışan fragmentleri içeren bütün mümkün fragmentleri kapsamasıdır. Metot çok hızlıdır ve ClogP gibi fizikokimyasal özelliklerin tahmininde kullanılabilir.

2.1.3.2. Inverse QSAR

Inverse QSAR Focus-2D olarak bilinen bu yaklaşım yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer biyolojik aktiviteyi göstereceği hipotezi üzerinde durur [33]. Bu yaklaşım topolojik parametreler gibi çeşitli kimyasal yapı parametrelerini, olasılık araştırma algoritmalarını ve kimyasal benzerlik fonksiyonlarını kullanır.

Bu metot özellikle peptit bileşik arşivindeki moleküllerin rasyonel dizaynı için Cho tarafından geliştirilen bir yaklaşımdır. Bu metodun amacı arşiv sentezi için çoğunlukla benzer olarak sunulan amino asitlerin alt serilerini seçmektir [34].

Bileşik arşivindeki yüksek aktiviteli bileşikleri seçmek için daha önceden özellikleri belirlenmiş QSAR metotları kullanılır. Bu metot, 28 bradykinin-potentiating BK pentapeptit bileşiğinin bir serisinden GA-PLS genetic algorithm partial least squares

metodu kullanılarak geliştirilen QSAR eşitliği ile geçerli kılınmış ve eşitlikten en aktif iki peptitin aktivitesi tahmin edilmiştir. Topolojik tanımlayıcılar Malconn-X programı ile hesaplanmıştır. Birçok amino asit temelli tanımlayıcılar olan elektronik özellikler ve hidrofobisite sıra ile elektronik yük indeksi (electronic charge index ECI) ve izotropik yüzey alanı (isotropic surface area ISA) kullanılarak anlatılmıştır.

2.1.3.3. Binary QSAR

Biyolojik aktiviteye sahip yeni bileşiklerin sentezlenerek arşive dahil edilmesinde kombinatoryal kimyanın ortaya çıkmasından sonra araştırmacılar kısa zamanda milyonlarca bileşiğin denenmesi için hızlı ve yeni metotlar araştırmışlardır. Bunun sonucu olarak, hızlı metot olarak HTS (high throughput screening) metodu geliştirilmiştir. Genellikle bu metot aktif yada inaktif şeklinde bilgiler ürettiği için sonuçlarda hatalara rastlanılır.

Binary QSAR ise, çalışılan molekül serisinde aktif ve inaktif bileşikler için olasılık hesaplaması yapan ve biyolojik aktivitenin binary ifadesi (aktif=1 ve inaktif=0) ile bileşiklerin yapısal özelliklerini ilişkilendiren HTS analizini kullanan bir yaklaşımdır [35].

Bu metot biyolojik aktivite için gereken önemli yapısal bilgileri çıkarmada ve ilaç tasarımı için arşivlerin tasarımında yardım eder. Metodun daha ayrıntılı şekli Labute'nin [36] ve Gao'nun [37] makalelerinde yer almaktadır.

Bu QSAR modelinin performansı modelden tahmin edilen üç aşamanın belirlenmesi ile ölçülebilir. m_0 aktif bileşiklerin sayısı, m_1 inaktif bileşiklerin sayısı ve c_0 ve c_1 ise sıra ile model tarafından doğru olarak tahmin edilen aktif ve inaktif bileşiklerin sayısı olmak üzere $100(c_0/m_0)$ aktif bileşiklerin yüzdesini ve $100(c_1/m_1)$ ise inaktif bileşiklerin yüzdesini ve $100(c_0+c_1)/(m_0+m_1)$ tüm bileşikler için ayrıntılı yüzdeyi verir.

Binary QSAR metodunun avantaj ve dezavantajları Labute tarafından makalesinde sunulmuştur. Bu metot HTS için bileşiklerin seçiminde ve kombinatoryal arşivlerinin tasarımında kullanışlıdır. Binary QSAR metodunun başlıca dezavantajı parametrelerin yorumlanmasında kolay olmamasıdır [28].

2.1.3.4. 3D-QSAR

C. Hansch grubu ve diğer araştırmacıların üzerinde durduğu QSAR yaklaşımları, biyolojik aktivite veya moleküldeki fiziksel ve yapısal değişimler ile yapısal parametreler arasındaki kantitatif ilişkileri gösterir. Bu metotlar, birçok ticari ilaç ve pestisitlerin geliştirilmesinde ve ilaç reseptör etkileşimlerinin aydınlatılmasında yardım eder. Bununla birlikte, bu metotlar bazı sınırlamalara sahiptir. En önemli sınırlama, yeni substituentler için sayısal parametrelerin bulunmamasıdır. Aktif Analog Yaklaşımı, Moleküler Şekil Analizi, Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA, Comparative Molecular Field Analysis) gibi birçok 3D-QSAR modeli yaklaşımı 1980 lerde ortaya çıkmıştır. Birçok yeni metot 1990 larda geliştirilmiş ve bu alan son on yıl boyunca ilaç tasarımı için oldukça fazla gelişim göstermiştir [28].

Bilgisayar çalışmalarından önce bile kimyacılar incelenen bir molekül serisi içinde yapı aktivite ilişkilerinin nasıl olduğunu tahmin edebilirlerdi. Genellikle molekülün yapısındaki küçük değişiklikler aktivite değişimini fazla etkilemez. Benzer fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan bileşikler benzer biyolojik aktiviteye sahiptir.

Bir bileşiğe biyolojik aktivite kazandıran molekülün üç boyutlu yapısı olduğu için 3D-QSAR, moleküldeki yapısal değişikliklerin biyolojik özelliklerin değişimlerini nasıl etkilediğini anlamamıza yardım eder. 3D-QSAR teknikleri yapı-aktivite ilişkilerini bilgisayar destekli olarak ortaya koyar. Hızı ve kesinliğinden dolayı 3D-QSAR metodları ile ligand-reseptör kompleks yapısı üzerindeki hesaplamalar yapılabilir. 3D QSAR teknikleri, incelenen molekül serisi dışındaki bileşiklerin aktifliğini veya inaktifliğinin tahmini için de kullanılır [38].

3D-QSAR da genel kurallar aşağıda maddeler halinde gösterilmiştir.

1. Konformasyonel analiz tekniklerini kullanarak minimum enerjili konformer seçilir.
2. İki atom arasındaki mesafe, halkalı sistemlerin optimizasyonu, donör-akseptör hidrojen bağı yada yüklü fonksiyonel gruplar tanımlanır.
3. Aktif Küme (Perform Cluster Analysis) sınıflandırma metodları ile bağlayıcı konformer seçilir. “Aktif Küme” aktif bileşiklerin yüksek konsantrasyonu ve inaktif bileşiklerin düşük konsantrasyonuna sahiptir. Aktif kümede her bir yapının en düşük enerjili konformer reseptör ile etkileşen konformer olarak alınır.

4. Farmakoforun, dipol momenti, polaritesi, nokta yükleri, moleküler elektrostatik potansiyeli, HOMO ve LUMO orbitalleri, şekil ve hacim gibi özellikleri belirlenir.
5. Önemli farmakofor özellikleri seçilir [39].

Biyolojik aktivite ile kimyasal bir serinin üç boyutlu özellikleri arasındaki bağıntıyı kullanan 3D-QSAR, son yıllarda QSAR metotlarının en dikkat çekeni olmuştur. Çünkü aktivite hesabı için kimyasal yapıyı anlatan parametreler kullanılır. 3D-QSAR metodu, parametre tipine göre iki temel sınıfa ayrılır. Birincisi hacim bazlı (lattice-based, incelenecek bir bileşik bir hacim içine yerleştirilerek özelliklerinin araştırılması) ve ikincisi yüzey bazlı parametrelerdir. Hacim bazlı metot olarak, 3D-QSAR metodunda en çok kullanılan CoMFA dır.

2.1.3.4.1. CoMFA

1979 da Cramer ve Milne molekülleri karşılaştırmak için uzayda molekülleri üst üste çakıştırarak üç boyutlu olarak incelemişlerdir. Bunu izleyen yıllarda bu yaklaşım CoMFA nın ilk uygulamalı modeli şeklinde, DYLOMMS (dynamic lattice-oriented molecular modelling system) metod olarak geliştirilmiş olmasına rağmen bilim adamları tarafından yetersiz olarak gösterilmiştir. Bunun ardından Cramer çeşitli çalışmalarla bu modelini geliştirerek 1988 de CoMFA olarak adlandırdığı bu yeni metodu ortaya çıkarmıştır ve bu metot geniş çapta kullanım alanı bularak, QSAR ve ilaç tasarımı için kullanılan en güçlü yöntemlerden biri olmuştur. CoMFA molekülün özelliklerini (biyolojik aktivite dahil) molekülün yapısı ile ilişkilendiren istatistiksel (PLS, PCA) ve grafiksel bir modeldir [40].

Aktivitenin doğrudan sistemin yapısal özellikleri ile ilgili olduğunu kabul eden CoMFA metotları 3D yapı-aktivite ilişkilerini kantitatif anlamda açıklar. Bu amaçla ilk olarak analizde kullanılacak olan molekül seti seçilir. En önemli ön koşul, benzer yapıya sahip olan moleküller aynı tip reseptörle (iyon kanalları, enzim, proteinler, hormonlar vb. gibi) aynı şekilde etkileşmesi (ligand-biyoalıcı etkileşimi) ile aynı bağlanma bölgelerini kullanması şartıdır. İkinci adım olarak, CoMFA modeli oluşturmak için moleküllerden bir alt grup (training set) seçilir. Geriye kalan moleküller test seti olarak düşünülür. Atomik yükler ve düşük enerjili konformasyonlar hesaplanır [40].

CoMFA da kimyasal yapının düzenlenmesi önemli olduğundan bu modelde moleküller birbiri üzerinde çakıştırılır ve bu çakıştırma için yapısal benzerlik esas alınır. Çakışmış moleküller üç boyutlu bir yüzeye yerleştirilir. Sonra sterik ve elektrostatik alanlarda moleküllerin her yüzey noktasında bütün moleküller için bilgisayarla hesaplama yapılır. En küçük kareler metodu (Partial Least Squares- PLS) kullanılarak sterik ve elektrostatik alanlardaki değişimler, biyolojik aktivitede ki değişimler ile ilişkilendirilir. PLS analizi genellikle parametrelerin (yapısal, konformasyonel, geometrik, elektronik ve termodinamik gibi fizikokimyasal özellikler) sayısı kimyasal modellerin sayısından daha büyük olduğu zaman kullanılır. En küçük kareler analizi, basit doğrusal, çoklu regresyon modellerinin çözümlenmesinde kullanıldığı gibi, çok denklemlili ekonometrik modellerin çözümündede kullanılan tekniklerden biridir [41].

PLS analizlerinden alınan datalar kullanılarak CoMFA haritaları düzenlenir. Bu haritalar analizdeki bileşiklerin elektrostatik ve sterik özelliklerini açıklamak ta kullanılır. Daha yüksek özellik değerlerine sahip olabilecek yeni bileşikleri önermeye yardımcı olan bu haritalar, bütün moleküller için ortak olan Pha'i göstermezler [42].

CoMFA da, örgü noktalarının belirlenmesinin güçlüğü, sonuçların biyoaktif konformasyonun seçimine ve moleküllerin çakıştırılması kurallarına bağımlı olması gibi bazı temel problemler olmasına rağmen, günümüzde metodun 3D-QSAR modelleri için oldukça kullanışlı bir araç olduğuna karar verilmiştir [43].

2.1.3.4.2. Aktif Analog Yaklaşımı

1979 da Marshall tarafından geliştirilen bu metodun temeli, benzer konformerler benzer aktiviteyi gösterir varsayımına dayanır. Bu metotta ilk olarak biyolojik olarak yüksek aktiviteye sahip bir bileşiğin konformerleri hesaplanır. Molekül serisindeki bütün bileşiklere bu işlem uygulandıktan sonra yüksek enerjili konformerler elimine edilir. Daha sonra aktif konformer belirlenir, moleküler hacim her bir molekül için hesaplanır ve moleküller üst üste çakıştırılır. Üst üste çakışmış konformerlerin belirli tolerans aralığında ortak olarak taşıdıkları aktif fragment Pha tanımlanır [44].

2.1.3.4.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA)

Hopfinger ve grubu 1980 de QSAR analizinde moleküllerin şekillerini ortaya çıkardılar ve bu metodu moleküler şekil analizi olarak adlandırdılar. Bu metodun asıl amacı

QSAR da konformasyonel analizi gerçekleştirmektir. 3D-QSAR da bu metodu kullanarak yapılandırma aşağıda verilen maddeler ile gerçekleştirilir.

1. İlk olarak konformasyonel analiz yapılır.
2. Çalışılan molekül serisindeki biyolojik olarak aktif konformer tanımlanır.
3. Referans bileşik seçilir.
4. Referans moleküle göre her bir bileşiğin üst üste çakıştırılması gerçekleştirilir.
5. Moleküler şekil parametreleri belirlenir.
6. Diğer Hansch tipi parametreler belirlenir.
7. MSA 3D-QSAR yapılandırılır.

Çakışmış hacim V_{ov} ve çakışmamış hacim V_{non} gibi moleküler parametreler moleküler şeklin kantitatif ölçümleri olarak hesaplanır. Bu 3D parametreleri Hansch analizinde kullanılan fizikokimyasal özellikler ile birlikte denenmiş 3D-QSAR modellerini ortaya çıkarmak için kullanılır [28].

2.1.3.4.4. CoMSIA (Comparative Molecular Shape Indices Analysis)

Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi olarak adlandırılan ve Gerhard Klebe tarafından geliştirilen CoMSIA, CoMFA ile benzerlik gösterir. Fakat CoMFA da Lennard-jones ve Coulomb potansiyeli kullanılırken CoMSIA, hidrojen bağı, hidrofobisite, elektrostatik ve sterik özellikleri tayin etmek için daha çok Gaussian fonksiyonunu kullanır [45]. Klasik CoMFA metoduna benzer olarak CoMSIA yaklaşımından elde edilen 3D-QSAR metodu aşağıda verilen üç basamakta özetlenebilir.

1. İlk olarak, incelenen bütün moleküller yapı bazlı yada alan bazlı olarak çakıştırılır.
2. Moleküllerin toplamını kapsayacak şekilde düzgün aralıklı ve dikdörtgen şekilli bir yüzey oluşturulmuştur. Bazı özelliklere sahip incelenen atom elektrostatik, sterik, hidrofobik, H-bağı verici veya alıcı özelliğini ölçmek için her örgü noktasına yerleştirilmiştir.

3. Sonuç olarak, alan örneklemeinden elde edilen sonuçlar test edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri ile birleştirilerek bir tablo içine yerleştirilir ve PLS son CoMSIA modelini elde etmek için uygulanır.

Genel olarak “leave-one-out cross-validation” tekniği CoMSIA modeli için kantitatif ölçüm aracı olarak kullanılabilir. CoMSIA da benzerlik farklı fizikokimyasal özelliklerin (sterik engel, kısmi atomik yük, bölgesel hidrofobik özellik ve H-bağı donor yada akseptör özelliği) terimleri ile açıklanır. Mesafeye bağlı Gaussian tipi fonksiyon fizikokimyasal özelliklerin farklı türlerini hesaplamak için kullanılır. İndeks, A_{EK} , ilgilenilen bileşikler ve prob atom arasında aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır.

$$A_{F,K}^q(j) = - \sum_{i=1}^n \omega_{probe,k} \omega_{ik} e^{-\alpha r_{iq}^2} \quad (2.14)$$

i: incelenen j molekülünün bütün atomlarının toplam indeksi; ω_{ik} : k atomunun fizikokimyasal özelliğinin gerçek değeri; $\omega_{prob,k}$: +1 yüklü, 1Å yarıçaplı, +1 hidrofobisiteye sahip, H-bağı donor ve akseptör özellikleri +1 olan prob atom; α : düzeltme faktörü; r_{iq} : incelenen molekülün i atomunun ve yüzey noktası q daki prob atom arasındaki karşılıklı mesafe [46].

CoMFA ve CoMSIA metodlarına ek olarak, moleküler düzenlenmenin (moleküllerin üst üste çakıştırılmadığı) kullanılmadığı COMMA, WHIM ve EVA gibi yeni 3D-QSAR teknikleri geliştirilmiştir [27].

2.1.3.4.5. CoMMA (Comparative Molecular Moment Analysis)

Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi olarak adlandırılan CoMMA, ilaç-reseptör etkileşiminde molekülün şekli kadar onun kütle ve yük dağılımlarının da önemli olduğunu dikkate alan bir metottur ve CoMMA da moleküllerin üst üste çakıştırılması işlemi yapılmaz [47].

2.1.3.4.6. EVA

EVA (EigenVAlue) parametreleri deneysel IR ve Raman moleküler dönme ve öteleme frekanslarından elde edilir. Katsayı parametreleri molekülün dönme modlarının yerini tutan katsayılara dayanan vektörlerdir. CoMFA ve CoMSIA gibi EVA da üç boyutlu

bilgileri içine alır. Bu yöntem CoMMA da olduğu gibi moleküler düzenlenme ve moleküllerin üst üste çakıştırılmasını dikkate almaz ve sadece moleküler konformasyonu dikkate alır [48].

2.1.3.4.7. WHIM

Weighted Holistic Invariant Molecular parametreler olarak adlandırılan WHIM Prof. Roberto Todeschini tarafından geliştirilen 3D-moleküler parametreleridir. WHIM parametreleri hacim, şekil, simetri ve atom dağılımları ile moleküler yapının tamamı hakkında bilgi verir. Üç boyutlu moleküler yapının en düşük enerjili konformeri x, y, z koordinatlarında hesaplanır. Fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik aktiviteyi modellemede yüksek kapasiteye sahip bu parametreler QSAR çalışmalarına yeni bir boyut kazandırmıştır. Heterojen bileşikler için de kullanışlıdır [49].

2.1.3.5. 4D-QSAR

Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandırdı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı. Bu metodun CoMFA dan başlıca farkı, konformasyonları eşleştirme işlemi yaparak, biyolojik aktivite bilgileri ile moleküler yapıların bir setinden geliştirilen modelde hem moleküler konformerleri hemde moleküllerin üst üste çakışması incelemelerini birleştirmesidir. 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu eşleştirme ortalamasından kaynaklanır. Bu metoda göre, çoğu 3D-QSAR metodlarından farklı olarak, aktif konformasyon minimum enerjili konformer değildir. Sistemik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için MDS (multi-temperature molecular dynamics) yi kullanır. Minimum enerjili konformerin 2Kcal/mol içinde olan tüm konformerleri çalışılan bileşik serisindeki her bir bileşiğin en aktif konformeri olarak tanımlanır. Düşük enerjili konformerlerin bu serisi en iyi sonucu veren 3D-QSAR modellerinde ayrı ayrı hesaplanır. Moleküler çakışma problemi benzer örnekleme ve hesaplama tekniği ile çözülmüştür. Her bileşiğin konformerleri, CoMFA metodunda olduğu gibi, en iyi çakışmayı bulmak için daha önceden belirlenmiş dikdörtgen şekilli bir yüzeye yerleştirilir ve 3D parametreleri bilgisayarda hesaplanır, daha sonra PLS teknikleri kullanılarak biyolojik aktivite ile korelasyonu yapılır. 3D-QSAR modelleri PLS tekniği ile ortaya çıkarılmıştır. Bu metot en iyi çakışmayı sonuçlandırana kadar tekrar edilir. Aktif konformer, aktivite değerini en iyi veren, uygun 3D-QSAR modelinden seçilir. Bu metot 3D-QSAR modellerini geliştirmek için kullanılmıştır [28].

Vedani son yıllarda QUASAR olarak adlandırılan paket programda 4D-QSAR yaklaşımını ortaya çıkarmıştır. Vedani ve grubuna göre bu program, çok yönlü konformasyonların etkilerinin birleştirilmesi ile, 4D-QSAR kavramlarını kullanır. Bu metot özellikle, ligandın reseptöre bağlanma serbest enerjisi tahmin edilirken, reseptör yapısı bilinmediği zamanlarda kullanışlıdır [50].

2.1.3.6. Moleküler Modelleme ve QSAR

Moleküler modelleme, bilgisayarlı kimya ve grafiksel tasarım teknikleri kullanılarak moleküler yapı ve özellikleri araştırmak için kullanılan bir tekniktir [51]. Moleküler modelleme yaklaşımları, bilgisayarlı analiz ve interaktif tasarım olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Modern moleküler modelleme yaklaşımlarından en önemli üçü, yapı analizi, homolog modelleme ve etkileşimdir. Aslında en iyi modelleme teknikleri, moleküler dinamik, moleküler mekanik ve kuantum mekanik olmak üzere üç temel sınıfa ayrılır [52].

Çoğu moleküler modelleme çalışmaları üç basamak içerir. İlk adımda moleküler içi ve moleküller arası etkileşimleri açıklamak için bir model seçilir. Moleküler modellemede kullanılan en genel iki model QM ve MM hesaplamaları ile elde edilir. Bu modeller, hesaplanan sistemde moleküllerin ve atomların enerji düzenlemesine imkan tanır ve bu modeller atom ve moleküllerin pozisyonundaki değişimlerin sistemin enerjisini nasıl değiştirdiğini belirlemeyi sağlar. Moleküler modelleme çalışmalarının ikinci basamağında konformasyonel araştırma, Monte Carlo Simülasyonu veya moleküler dinamik hesaplaması yapılır. Son olarak hesaplama sonuçları analiz edilir. Sadece özellikler hesaplanmaz aynı zamanda uygun bir biçimde gerçekleştirilmesini yapar.

Kısaca moleküler modellemeye başlamak için üç ana metod kullanılır.

1. İlk olarak, özellikle bağ açısı ve bağ uzunlukları gibi geometrik özellikler yapılandırılır.

2. Molekül optimize edilerek uygun geometriye sahip olan fragmentler ortaya çıkarılır.
3. X-ışınları kristalografisi, nötron difraksiyonu veya NMR gibi fiziksel deney sonuçlarından elde edilen bilgiler kullanılarak yapılandırma işlemi yapılır.

Basit olarak moleküler modelleme ya moleküler ve biyolojik özellikleri tahmin eden yada molekülleri ve moleküler sistemleri analiz edebilen, deneysel bilgilere ve teorik kimyasal metotlara dayanan bir bilgisayar tekniği olarak düşünülebilir. Geçerli mevcut teknikler biyolojik aktiviteden sorumlu olan hidrofobisite, atomun ve molekülün elektronik özellikleri, molekülün geometrisi gibi özellikleri açıklar. Bütün bu özellikler ilaç tasarımında yapı-aktivite ilişkisini anlamakta önemlidir. SYBYL, AMBER, DOCK, MODELER ve RasMol moleküler modellemede en çok kullanılan programlardır [53].

2.1.4. Biyoalıcı İle İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması

Biyolojik aktivite, incelenen molekül ve biyoalıcının etkileşimi ile doğrudan ilişkilidir. Bu etkileşimin mekanizması oldukça karmaşık olduğu gibi biyokimyanın en zor problemlerinden birisidir. Biyoalıcılar hakkındaki bilgiler genellikle sınırlıdır ve ilaç molekülleri ile etkileşimleri, metabolizma gibi harici etkilerden dolayı oldukça karmaşıktır. Bu problem, ilaç-biyoalıcı etkileşiminin her bir kademesinde değişik biyolojik yöntemlere ve fizikokimyasal metotlara başvurmakla çözülebilir. Fakat, genel olarak bu yol çok uzun ve çözülmesi zordur. Diğer taraftan bilinen moleküler yapı ve maddelerin biyolojik aktiviteleri üzerine oldukça fazla miktarda deneysel bilgiler mevcuttur. İlaç-biyoalıcı etkileşiminin biyomekanizmasını dikkate almadan, bu probleme aktif ve inaktif bileşikler deneysel metotlarla tespit ederek aralarındaki benzerlikleri ve farklılıkları açıklayan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda bilgilere dayanarak, aktiviteden sorumlu bileşiklerin temel özelliklerine karar verilebilir ve biyolojik aktivite için bazı tahmini kurallar formüllendirilebilir.

Kullanılan QSAR metotlarında problemin en zor kısmı, biyoalıcı ile ilaç molekülünün etkileşim mekanizmasını net olarak ortaya koyamamasıdır. Bu nedenle, ilaç-biyoalıcı etkileşim mekanizması bilinmeyen bir kapalı kutu gibi düşünülebilir. Sadece bu kapalı

kutudaki girdiler ve çıktılar analiz edilebilir ve ayrıntılı olarak karşılaştırılabilir. Bu işlemde, çıktılar, biyolojik aktivite olarak tanımlanan deneysel olarak belirlenmiş kantitatif biyoalıcı-ilaç molekülü etkileşimidir. Bu kapalı kutu için girdinin kesinliği daha da azdır. Hakikaten molekülün hangi tür özelliklerinin biyolojik aktivite formülünde kullanılacağı belirli değildir.

Molekülün hangi tür özelliklerinin biyolojik aktivite formülünde kullanılacağı belirli olmadığından incelenecek girdilerin kesinliği azdır. Birçok QSAR yaklaşımında, moleküler modelleme metodu bilgisayar hesaplamalarında kullanıldı (topolojik indisler, moleküler grafikler kartezyen koordinatlar atomik yükler bağ mertebesi bağ uzunlukları gibi). Molekülü tanımlayan bu metotlar genellikle biyolojik aktiviteyi doğru şekilde tahmin edecek kadar etkili değildirler. Tanımlama biçiminin parametreleri genellikle fiziksel ve kimyasal değişkenlere gereksinim duyarlar. Bu parametreleri kimyacılar geçmiş deneyimlerine dayanarak doğrudan kullanamazlar ve direkt olarak yeni bileşiklere uygulayamazlar. Bilgisayar hesaplamalarıyla QSAR' da çözüm üretmek bu yüzden anlamlı ve temel gereksinimdir. QSAR metotlarının ana problemi doğru ve yeterli parametreleri bularak genel ve hassas biyolojik aktivite tahmininde bulunmasındaki zorludur.

2D-QSAR analizi üzerinde çok çalışılmış bir alandır. Moleküler parametrelerin değişik türlerinin yüzlercesini içeren QSAR çalışmaları, birbirini izleyen uygun metotların sürekli geliştirilmeleri ile hızla artmaktadır. Biyoalıcının üç boyutlu yapısının bilindiği durumlarda bağımsız olarak geliştirilen QSAR eşitliği, bağlanma bölgesinin polar ve apolar özelliklerini yansıtır.

Bununla birlikte, 2D-QSAR çalışmalarında, analiz yapmak için moleküllerin üç boyutlu yapıları hakkında hiçbir bilgi gerekmez. Bilgisayarların gücünün düşük olduğu günlerde bu bir avantajdı. Ancak bilinen bir molekül serisinden bilinmeyen molekül serisine extrapolasyon yapmak zordur.

Moleküler parametreler, genellikle QSAR analizinin bir parçası olarak modern kuantum kimya hesaplamalarından elde edilir. Mesela, özel bir atomda en yüksek enerjili dolu orbitaldeki (HOMO) veya en düşük enerjili boş orbitaldeki (LUMO) kısmi atomik katsayılar biyolojik aktivite ile ilişkili olabilir. Bu metotlar üç boyutlu bir yapı gerektirmemelerine rağmen, moleküler parametreler uzaydaki özelliklerin

tanımlayıcıları değildirler. Bu yetersizliklerin üstesinden gelmek için 3D-QSAR metotları geliştirilmiştir [54-58]. 3D-QSAR metotları önceden ölçülmüş veya hesaplanmış süstitüent değişkenlerinin tablosuna bağlı değildir, fakat bunun yerine analizdeki bütün moleküllerin özelliklerini dikkate alırlar. Sonuç olarak yeni moleküller analize daha kolay dahil edilirler. Bunun yanı sıra, hem Hansch eşitliği hem de 3D-QSAR metotları aynı özellikleri tanımlayabilirler ve tanımlayıcı modelleri verebilirler. Bu yaklaşımlara bir yenilik ise, elektron-konformasyonel metod ile moleküllerin üç boyutlu elektronik topolojik özellikleri (yük, atomlar arası mesafe, bağ mertebesi, bağ uzunluğu vs.) dikkate alınarak aktiviteden sorumlu Pha ve onun etrafında bulunan ve aktivite değerlerini artıran, AG veya azaltan, APS gruplarının belirlenmesidir.

2.1.5. QSAR Yöntemi Olarak Electron-Konformasyonel Metod

Adenosin de incelenen bileşiklerin deneysel aktiviteleri kaynaklardan toplanarak molekül serisi belirlenmiştir. Moleküllerin konformasyonları dikkate alınarak “Spartan ES” programında kuantum kimya hesaplamaları yapılmıştır. Bu sonuçlar bu programda ele alınarak her bir konformere ait yükler bağ derecesi ve atomlar arası özellikler, molekülün üç boyutta sayısal bir gösterimi olan ETMC matrisinde gösterilmiştir. Matrislerin karşılaştırmasıyla aktiviteden sorumlu farmakofor, **Pha**, belirlenerek, Pha yı bulunduran konformerler için aktiviteyi azaltan grup, APS ve aktiviteyi artıran, AG gruplarına ait torsiyon açıları, Pha’dan uzaklıkları ve bu grupların etkin katsayı değerleri bulunur. Bu karakteristik özellikler, Pha’in yanında aktivitenin değerine etki eder ve onun nicel olarak incelenmesine imkan sağlar.

2.1.6. Farmakofor Tanımlamasına Genel Bakış

İlaç tasarımı farmakofor (Pha) terimi ana kavramlardan biridir. Reseptörün üç boyutlu yapısı bilinmediği zaman farmakofor tanımlaması, yeni farmakolojik ilaçların rasyonel tasarımı bir anahtardır. Pha modelleri, reseptör yapıları deneysel olarak açıklanamadığı zaman reseptör-ligand etkileşimini açıklamada kimyacılar yardım eder [59].

Farmakofor kavramı Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımında, (CADD- Computer-Assisted Drug Design), reseptör veya enzim ile etkileşen çeşitli moleküllerdeki genel üç boyutlu özelliklerin araştırılmasında kullanılır [60].

Farmakofor terimi 1900 lerin başında Ehrlich tarafından ortaya çıkarılmış ve ilaç aktivitesinden sorumlu temel özellikleri taşıyan moleküler iskelet ile ilgili olduğu ifade edilmiştir. Günümüzde ise Pha terimi üç boyutlu moleküler yapılara uygulandığında farklı bir anlam kazanır çünkü 3D farmakofor, özellikle kimyasal özellik (fonksiyonel gruplar) ile uzaydaki düzenlenmelerin bir toplamı olarak tanımlanır [61].

Pha, araştırmacılara bağlı olarak çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Ancak Pha çoğunlukla, kesin bir biyolojik aktivite sağlamak zorunda olan bileşiğin, kimyasal, yapısal ve fiziksel özelliklerinin kombinasyonlarını kapsayan bir grup özelliği olarak ifade edilir [62].

İncelenen molekül serisinde ilaç etkisinden sorumlu olan Pha grubudur. Deneme setindeki aktif molekülde aktiviteden sorumlu belli bir geometrik düzende olan atomlar veya atom gruplarına farmakofor denilir. Bu tanımlama, belli bir moleküler sistemde Pha'nın varlığında veya yokluğunda aktivitenin kalitatif olarak (aktivite var yada yok) belirlenmesinde kullanılabilir. Fakat Phanın var yada yok şeklinde tanımlanması, aktifliğin kalitatif ölçümü için yetersiz olabilir. Örneğin Pha var fakat aktiflik küçük ise, bileşik deneysel olarak inaktif şeklinde sınıflandırılabilir [62].

Probleme ilk yaklaşım olarak bu tanım kullanışlı olabilir. Bununla birlikte EC metodu ve bu alandaki son çalışmalar göstermiştir ki, Pha'nın yukarıdaki tanımı iyi bir aktivite tahminini yapmak için yetersizdir. EC metotta Pha tanımlaması işlemi QSAR yaklaşımında kullanılanlardan daha farklıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Pha dışındaki bazı atom gruplarında (out-of-Pha=OOP) aktiviteye önemli derecede etki ettiğini göstermiştir. Bu gruplarda biyoalıcılar ile önemli derecede etkileşime girmektedir.

I.B.Bersuker EC metodunda, Pha'nın tanımını aşağıdaki üç önemli aşamada göstermiştir.

1- Pha sadece atomlar ile değil moleküldeki atomların elektronik özellikleri ile de ilgilidir. Bilindiği gibi farklı bileşiklerde, aynı atomlar için farklı ve farklı atomlar için aynı olabilen elektronik özellikler olabilir.

2- Pha'nın geometrik parametreleri ve elektronik özelliklerinin her ikisi de aktif bir bileşikten diğerine belirli sınırlar içerisinde değişir ve aktivite bu değişikliklerin (Pha esnekliği) bir fonksiyonu olabilir.

3- Pha aktivitenin tanımlanmasında gereklidir fakat tek başına yeterli değildir. Pha'nın olmasına rağmen aktivite Pha dışındaki gruplar tarafından azaltılabilir (APS) yada artırılabilir (AG). Bu gruplar, Pha'nın biyoalıcı ile uygun etkileşimini engelleyen APS (A.Dimoglo çalışmalarında APS grubunu anti farmakofor grup olarak tanımlamıştır) ve moleküldeki hidrofobisite gibi özellikleri sağlayan AG gruplarıdır [63].

Pha'nın belirlenmesi için bu tanım temel olarak alınır. İlaç moleküllerinde, konformerleri, geometrisi ve elektronik özellikleri önemlidir. Kantitatif biyolojik aktivite tahmini regresyon analizi ve molekülün özelliklerinin değerlendirilmesi ile yapılırken, EC metodunda ise Pha belirlenmesi, kuantum kimya hesaplamalarından elde edilen moleküler özelliklerin bilgisayarla matris haline getirilmesi ile yapılır.

Genelde, Pha, farklı bileşiklerin bir serisinde gözlemlenmiş biyolojik aktivitenin nedenini anlamak ve daha aktif bileşiklerin tasarımına yardımcı olmak için kullanılır. [64-68].

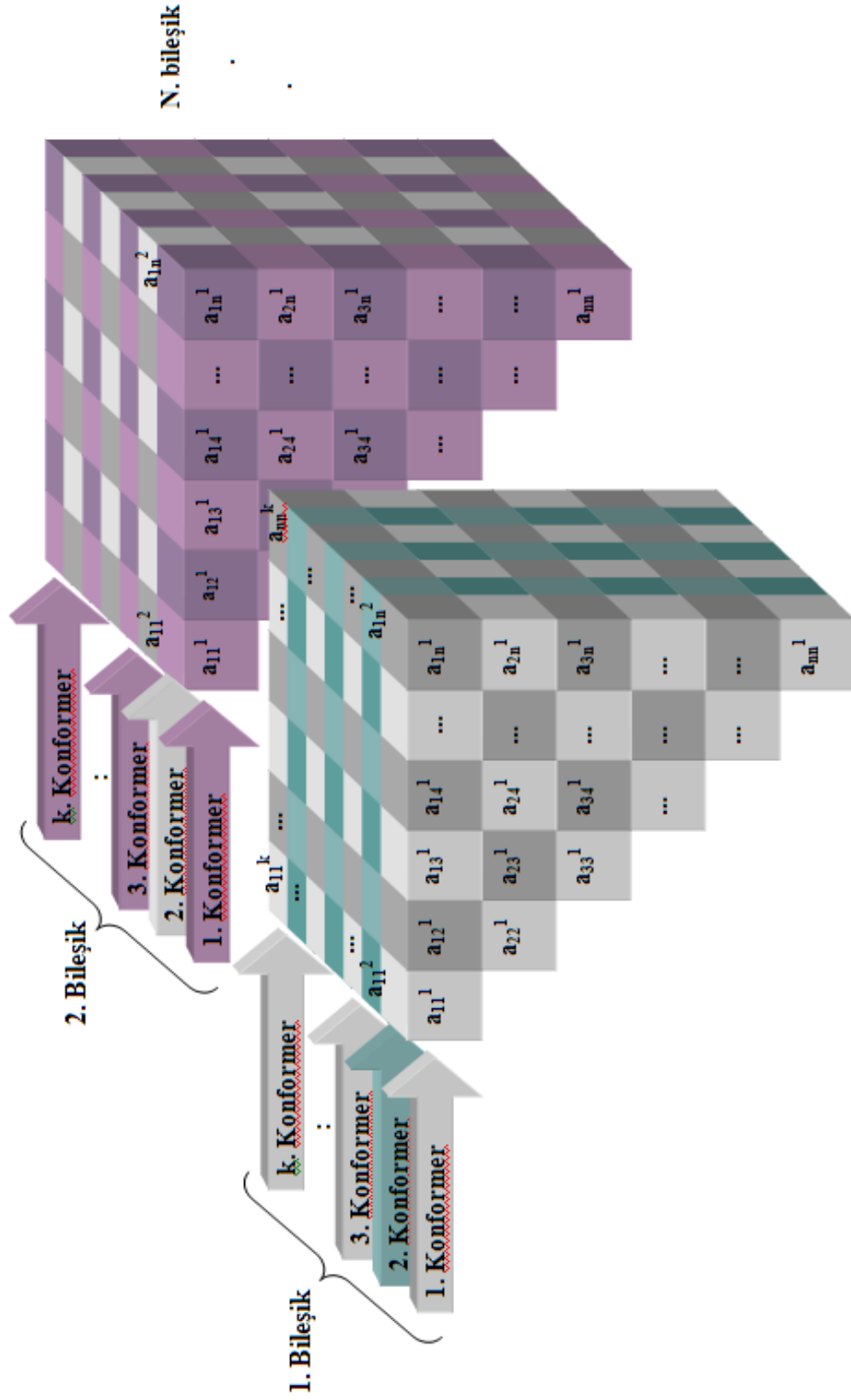
Enzimler veya biyoalıcılar hakkında yeterli bilgi bulunmadığından ve bunların özelliklerini belirlemek zor olduğundan, önemli stereo-elektronik parametreleri belirlemek için ilaç özelliği gösteren bir seri bileşiğin karşılaştırmalı yapı-aktivite ilişkisine dikkate alınması çalışmaları kolaylaştırır. Bu durumda moleküler modelleme yaklaşımı, bilinen aktif/inaktif moleküllerin yapısal özelliklerinin ayrıntılandırılmış analizinden oluşur ve bilinmeyen biyoalıcı bölgesinin yapısı elde edilen parametrelerin yorumlanması ile açıklanır. Bu problemleri çözmek için çeşitli metotlar vardır.

Pha tanımlamak için kullanılan birçok yeni metot, ilaç-biyoalıcı etkileşim bölgesinin hesaplamalarını içerirler. Martin ve grubu tarafından geliştirilen DISCO (Distance Comparison) adlı bir program bu metotlara örnek olarak verilebilir. Bu programın ilk adımında temsili bileşik grubu seçilir. Daha sonra her bir bileşiğin düşük enerjili konformerini bulmak için bir konformasyonel analiz uygulanır. Daha sonra her bir bileşik için farmakofor grubu ile ilgili özellikler hesaplanır. DISCO'nun önemli bir özelliği hidrojen bağı yapabilen ve yapamayan bölgelerinin hesaplanmasıdır [69].

Ticari moleküler modelleme programlarına bir ek olarak, ChemX programının içerisinde farmakofor haritalandırma yöntemi kullanıma hazırdır. Bu yaklaşım bilinen bir farmakofor tanımlama işlemini takip eder. İlk önce, seçilen molekül serisinde düşük enerjili konformerleri belirlemek için konformasyonel analiz yapılır. Daha sonraki adım ise hidrojen bağı yapabilen ve yapamayan bölgelerle, pozitif yüklü atomlar ve aromatik halka merkezleri olan potansiyel Pha noktaları belirlenir. Bu işlem sırasında, nokta çiftleri (mesafe anahtarı) ile sayısal bilgiler ve noktalar arası ilişkiler arasındaki mesafeler hesaplanır (formül anahtarı). Pha belirlenmesi mesafe ve formül anahtarlarının araştırılmasıyla tamamlanır. Daha sonra her bileşiğin en az bir konformeri bu Pha'lerle karşılaştırılır[70].

Bu tezin başlangıç noktası olarak sunulan, Pha tanımlama metodlarından bir tanesi de elektron topolojik yaklaşımdır [71-72]. Bu yaklaşımda, bir molekülün geometrik ve elektronik özellikleri bir matris içinde tanımlanır. Her bir molekül için, bir elektron topolojik matris, sadece konformasyonel analizinden seçilen bir konformere dayanarak yapılır. Elektron topolojik matris diyagonal elemanları ile bir elektronik yapısal parametre içeren gerekli atomlar arası mesafe matrisidir. Kimyasal olarak bağlı olan iki atom için non-diyagonal elemanları bağa ait (bağ sırası, Wieberg indisi, bağ enerjisi vb.) bilgileri depolamak için kullanılır. Bir seride aktif bileşikler için matrisler daha sonra, inaktif bileşiklerde bulunmayan ortak özellikleri bulmak için karşılaştırılırlar. Bu ortak özellikler aktivitenin elektron topolojik alt matrisinden çıkan Pha ile temsil edilir. Pha'nın sonuçlarının incelenen aktiviteyi temsil ettiği öne sürülür.

Konformasyon analizi yapılan elektronik yapısı hesaplanan ve deneysel biyolojik aktivitesi bilinen bileşik serisinin Elektron-Topolojik yöntemle incelenmesi şu şekildedir.



Şekil 2.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik (Three Dimensional)

TDETMC

Şekil 2.2' de görüldüğü gibi her bir molekülün Elektron-Topolojik Uygunluk Matrisi (ETMC) ya da üç boyutlu ETMC (TDETMC) matrisi hazırlanır. ETMC matrisinin her biri köşegen elemanlarına göre simetrik olduğundan şekilde sadece matrisin üst yarısı gösterilmiştir. Moleküldeki atom sayısı n ise bağımsız elemanların toplam sayısı $n(n+1)/2$ ' dir. TDETMC matrisinde ETMC matrisinin sayısı (m) elektronik parametrelerin seçimine bağlıdır. Molekülün elektronik özelliklerini tanımlayan atomik yükler, Valens aktiviteleri, polarize edilebilirlik ve HOMO-LUMO enerjileri gibi atomik parametreler köşegen elemanları a^k ($k=1, 2, 3, \dots, n$, ve $k=1, 2, 3, \dots, m$) olarak seçilir. Köşegen dışı elemanlar (a^{ij} çeşittir, a. Eğer i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı iki komşu atomu gösteriyor ise a^{ij} , polarize edilebilirlik, bağ mertebesi (Wiberg indeks) ve bağ enerjisi (toplam kovalent iyonik) gibi i - j bağının elektronik parametrelerinden birisi olabilir. b. i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı olmayan atomları gösterir ise, o zaman a^{ij}/R_{ij} atomlar arası uzaklığı gösterir. Böylece her matris hem elektronik (a^{ij}) hem de geometrik parametreyi (R_{ij}) içerir.

Bir molekülün belli bir konformasyonu için geometrik parametrelerin sabit olmasına karşın elektronik parametreler atomik ve bağ parametrelerinin değişik kombinasyonları olarak alınabilir. Örneğin bağ uzunlukları (bağ parametresi) ile atomik yükler (atomik parametreler) veya atomik polarize edilebilirlik-bağ enerjisi gibi değişik kombinasyonlar elektronik parametre olarak alınabilir. Bu kombinasyonların her biri bir ETMC matrisini oluşturur. Elektronik parametre için oluşturulan kombinasyonların sayısı m ve incelenen serinin molekül sayısı n ise her bir molekül için m tane ETMC matrisi ve her bir kombinasyon için de n tane ETMC matrisi elde edilir. ETMC matrisi oluşturulduktan sonra aktif bileşiklerin ETMC matris elemanları aktif olmayanların ETMC matris elemanları ile tek-tek karşılaştırılarak verilen bir doğruluk derecesinde aktif bileşiklerde olan ancak inaktif bileşiklerde bulunmayan matris elemanları grubu bulunur. Bu yolla elde edilen matris elemanları grubuna elektron-topolojik aktiflik alt matrisi (ETSA) adı verilir. ETSA matrisi molekülün aktiflikten sorumlu olan elektron-topolojik fragmentini temsil eder.

Şayet $m > 1$ ise ETSA matrisini belirleme işlemi m defa tekrarlanmalıdır. Bu yolla elde edilen ETSA matrisleri aynı ya da farklı olabilir. Bunlardan bazıları daha fazla bilgi verebilir ve aktif bileşiklerin inaktif bileşiklerden daha iyi ayrılmasını sağlar.

Bu nedenle incelenen bileşik serisinin analizinde en fazla bilgi ihtiva eden ETSA matrislerinin elektronik ve geometrik parametreleri kullanılır.

Aktivite kantitatif olarak biliniyorsa incelenen seri belli bir aktivite değerinden itibaren ikiye bölünür. Bu değerin üstündekiler aktif altındakiler inaktif olarak kabul edilir. Her grup için ETSA matrisi bulunur. Bulunan ETSA matrislerinin matris elemanlarının karşılaştırılması ile aktivite ETSA parametrelerinin bir fonksiyonu olarak ifade edilir. Bir çok problem bu metodun en basit versiyonu ile çözülmüştür. Bu basit versiyon bir bütün halinde bu yaklaşımın ana özelliklerinin faydasını şu uygulamalarla açıklamıştır; misk kokusunun çıkışı [73-74], sarımsak aktivitesi [75-76], et kokusu [77-78], thymidine fosforilasin inhibe aktivitesi [79-80], bitki büyüme düzenleyicisi aktivitesi [81], dibenzo [a,d] sikloalkeniminlerin bir serisinin yapı-antagonist aktivitesi [64], glikolik asit oksidaz'ın inhibe aktivitesi [82], sandal ağacı kokusu [83], kehribar kokusu [84] ve benzerleri.

Bu çalışmaların çoğunluğunda ana hedef, Pha'i açıklamaktır. Pha kavramının değeri, eğer aktivite tahmininin kantitatif bir ölçüsü ile tanımlanırsa veya en azından büyüklük sırasına dizilirse anlamlı bir şekilde artar. Diğer araştırmaların arasından anlatılanlar bu incelemede yapılmıştır.

Bu çalışmada adenosin serisindeki 21 bileşiğin anti-tümör aktiviteleri QSAR tekniği olan EC-QSAR metodu ile incelenmiştir.

3. BÖLÜM

YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada:

- 1) Spartan ES paket programında kuantum kimyasal hesaplamalar yapılmıştır. Bu programda;
 - 1a. Semiempirik hesaplamalar,
 - 1b. Kuantum kimyasal hesaplamalar,
 - 2) Electron-Konformasyonel (EC-QSAR)metodu içerisinde;
 - 2a. Her bir konformerin topolojisini üç boyutlu olarak temsil eden konformerlerin topolojik matrisleri (Electron Topologic Matrix of Conformers, ETMC) çıkartan program,
 - 2b. ETMC matrislerinin süperpozisyona göre yeniden düzenleyen program,
 - 2c. Benzeşen atom gruplarından muhtemel Pha'leri ve buna göre AG ve APS grupları belirleyen program,
- kullanılmıştır.

3.2. Metot

Spartan ES programında molekül iskeletlerinin çizimi ve iskelet dinamiklerine göre en düşük enerji halleri minimize edilerek molekül yapılarının çıkartılması.

Semiempirik , PM3, metoduyla uygun konformerlerin belirlenmesi.

Programda bulunan “Align” anahtar kelimesi ile moleküller üst üste karşılaştırılarak molekülün aynı yapıya sahip yüksek enerjili konformerleri silinir.

Silinme işleminden sonra kalan konformerlerin kuantum kimya hesaplamaları Semi-empirik PM3 metoduyla yapılır. Hesaplama sonucunda, oda sıcaklığında düşük enerjili konformerler seçilir (örneğin göreceli entalpi değeri 1.5kcal/mol'den büyük olanlar silinir).

Uygun atomlar tekrar “align” yapılarak benzer veya az farklı konformerler işlem dışı bırakılır.

Biyolojik aktivite gösteren moleküllerin biyoaktiflerle etkileşmesinde aktiflik mekanizmalarının açıklanması ve aktif fragmentin çıkartılması için yukarıda belirtilen beş kademedeki Spartan paket programı kullanılmasından sonra seri bileşiklerin incelenmesi için EC-QSAR metodu kullanılır.

Uygun elektron konformasyonel matris (ETMC) oluşturulur ve düzenlenir.

ETMC'ler referans konformere bağlı olarak karşılaştırılır.

Pha'ler belirlenir.

Regresyon analiz değerlerine göre en uygun tek bir Pha ve onun AG ve APS'leri sonuçlandırılır.

Aktivitenin Elektron Konformasyonel alt matrisi (“Electron Conformer Sub-Matrix”; ECSA) ile Pha atomlar belirlenir.

Denenmemiş yeni bir molekül için Pha, AG ve APS gruplarının etkisi ile aktivite hesaplanır.

3.2.1. Konformasyon Analiz İşlemi

Moleküllerin konformasyon analizi Spartan paket programındaki semiempirik, PM3, metodu ile yapılır. Semiempirik, bir molekülün konformasyon enerjisini ve yapısını çıkarmak için kullanılan hesap metodudur. Bu metotta molekülün toplam potansiyel enerjisini minimum yapan molekül yapısı bulunur. Moleküldeki atomlar arasında mümkün olan tüm karşılıklı etkileşimler dikkate alınarak hesaplamalar yapılır.

Kullanılan program oldukça hızlıdır ve enzimler gibi büyük yapıli sistemler için dahi tepkime ısısı ve konformasyon kararlılıkları gibi nicelikler kolaylıkla hesaplanabilir.

Ayrıca elektronik yapıya bağıli olan özellikler ya da elektronik yapı hakkında bilgi edinilebilir.

Molekülün konformasyon enerjisi, mekanik model esas alınarak mümkün olan etkileşme enerjilerinin (Van der Waals, dönme, elektrostatik, hidrojen bağı, valens bağı, valens açısı gerilme enerjileri) toplamı şeklindedir.

a)Van-der Waals etkileşim enerjisi;

Lennard-Jones (3.1) ya da Buckingham (3.2) olarak bilinen potansiyelle belirlenir.

$$U_w = -A / r^6 + B / r^{12} \quad (3.1)$$

$$U_w = -A / r^6 + Be^{-Cr} \quad (3.2)$$

Burada A,B,C ampirik parametrelerdir. r; Van-der Waals yarıçapıdır. Her iki ifadede birinci terim çekmeyi, ikinci terim ise itmeyi karakterize etmektedir.

b) Dönme enerjisi;

$$U_d = \frac{U_0}{2} (1 \pm n \cos \phi) \quad (3.3)$$

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada U_0 potansiyel engelin yüksekliğini karakterize eden ampirik parametre, ϕ iki yüzlü dönme açısı, n ise atom elektronlarının kendi etrafında dönmesi ile oluşan valens halleri ile ilgili bir parametre, $\pm$ işaretleri ise başlangıç konformasyonunun seçilmesi ile ilgilidir.

c)Elektrostatik enerji;

$$U_{el} = K \sum \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \quad (3.4)$$

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada q_i ve q_j karşılıklı etkileşen atomların yükleri, r_{ij} onlar arasındaki uzaklık, ϵ ise molekülün yer aldığı ortamın (di elektrik) katsayısı, K ise

angstrom ile ölçüldüğünde enerjinin kcal/mol ile ifade edilmesi için gereken dönüşüm parametresidir. (K=232)

d) Hidrojen bağının enerjisi;

Morse potansiyeli olarak bilinen,

$$U_{hb} = D[1 - \exp(-c\Delta r)]^2 - D \quad (3.5)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada D hidrojen bağının ayrışma enerjisi (dissosiasyon) enerjisi,

$$\Delta r = r - r_0 \quad (3.6)$$

olup r_0 hidrojen bağının denge halindeki uzunluğu, r herhangi bir andaki uzunluğu (uzanımı), c ise ampirik bir parametredir.

Birçok organik ve biyolojik moleküller makro moleküller bileşiklerde molekül içi hidrojen bağları mevcuttur. Bu bağların enerjileri de molekülün toplam enerjisini (konformasyon enerjisini) etkilemektedir.

e) Valens açısı enerjisi;

$$U_{açı} = \sum_{i=1}^{N_0} C_i (\alpha_i - \alpha_i^0)^2$$

(3.7)

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada C_i uygun esneklik katsayısı, N_0 valens açılarının sayısı, C_i ve α_i^0 ' ler ampirik parametrelerdir.

f) Valens bağı enerjisi;

$$U_{vb} = \sum K_i (r_i - r_i^0)^2$$

(3.8)

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada r^0 ve r kimyasal bağ uzunluklarının ideal ve gerçek değerleri, K_i esneklik katsayısı, K_i ve r_i ampirik parametrelerdir. Molekülde titreşim hareketinin olmaması halinde valens açıların ve valens bağ uzunluklarının sabit kaldığı söylenir. Bu enerjilerin toplamı, molekülün konformasyon enerjisini verir.

$$U = U_w + U_d + U_{el} + U_{hb} + U_{tit} (U_{va} + U_{vb}) \quad (3.9)$$

3.2.2. Kuantum Kimyası Hesaplamaları

Semiempirik hesaplamaların ardından bütün moleküller için çalışılacak konformerler tespit edildikten sonra bu konformerler Semi-ampirik programında PM3 metodu ile tekrar hesaba alındı. Ardından göreceli olarak, toplam enerjileri <1 olan konformerlerin sonuçları *.txt dosyaları halinde farklı olarak kaydedildi.

Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinden atomların yükleri ve kartezyen koordinatları, moleküle ait enerjiler ET-matrisine dönüştürüldü. Bu matris değerleri, moleküllerin karşılaştırma ile aktif fragmentinin bulunması için kullanıldı. Bir molekülün detaylı yapısı kuantum mekaniksel metotla incelenir. Dolayısıyla molekül için, Schrödinger denkleminin çözülmesi gerekir. Fakat Schrödinger denklemi, yalnız hidrojen atomu ve ona benzer iyonlar için hassas çözülebilir.

İkiden fazla elektrona sahip atomların veya kuantum mekaniksel sistemlerin çözümü için Schrödinger denkleminin hassas çözümü mümkün değildir. Bunun için simülasyon metotları kullanılmaktadır. Örneğin; N elektronlu atom için Hamilton operatörü;

$$H = -\frac{h^2}{2m} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - Ze^2 \sum_{i=1}^N \frac{1}{r_i} + e^2 \sum_{i>j}^N \sum_{j=1}^N \frac{1}{r_{ij}} + R \quad (3.10)$$

şeklinde verilmektedir. Burada Z; çekirdek yükü, e; elektron yükü, m; atom kütlesi, ∇_i^2 ; ise koordinatlara bağlı olup ikinci mertebeden diferansiyel operatörlerinin toplamını göstermektedir. Atomun tam hareketi dikkate alınmamıştır. Denklem (3.10)'daki birinci terim elektronların kinetik, ikinci ve üçüncü terimler ise elektronların atom çekirdeği ve birbirleri arasındaki karşılıklı etki enerjisinin operatörleridir. R ise relativistik etkileri dikkate alan terimdir. Deney verileri göstermiştir ki; dış alan etkilediğinde hafif

atomlar için relativistik etkiler dikkate alınmayabilir. Bu sebepten izole olmuş atomlar için relativistik olmayan Schrödinger denklemi genel halde,

$$H\Psi = E\Psi$$

$$\left\{ -\frac{\hbar^2}{2m} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - Ze^2 \sum_{i=1}^N \frac{1}{r_i} + e^2 \sum_{i>j}^N \sum_{j=1}^N \frac{1}{r_{ij}} \right\} \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N, \sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_N) = E\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N, \sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_N) \quad (3.11)$$

şeklinde yazılabilir. Burada r_i x,y,z koordinatlarını, N moleküldeki elektronların sayısını, σ_N ise çekirdeklerin sayısını göstermektedir. Atomun hal fonksiyonu $\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N, \sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_N)$ elektronların 3N sayıda uzay ve N sayıda spin koordinatları ile ilgilidir. Atomun yapısı tüm karşılıklı etkilere bağlıdır. Her bir elektronun durumu ise, çekirdeğin yanı sıra N-1 elektronun durumuna da bağlıdır. (3.11) denkleminin çözülmesi, atomun E enerjisinin ve Ψ hal fonksiyonunun bulunmasına, bunların bilinmesi ise atomu karakterize eden tüm parametrelerin bilinmesine imkan vermektedir.

Spartan paket programında PM3 metodu kullanılarak her bir bileşiğin, HOMO-LUMO enerji ve katsayıları, atomlar arası yoğunlukları ve atom yükleri, elektronik yükler ve bileşiğin toplam enerjisi gibi elektronik yapı parametreleri aşağıda gösterilen bağıntılardan hesap edilmiştir.

a) Atomlar arası elektron yoğunlukları ve atom yükleri,

$$P_{pq} = \sum_{j=1}^N C_{pj}^* C_{qj} \quad (3.12)$$

denklemi ile hesaplanmıştır. Burada, P_{pq} yoğunluk matrisi, C_{pj}^* ve C_{qj} orbital katsayılarıdır.

b) Elektronik yükler ve atom orbitalleri üzerindeki elektron yoğunlukları,

$$P_{AA} = \sum_{p=1}^M P_{pp}$$

(3.13)

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada, P_{AA} atomun elektron yoğunluk matrisi, P_{pp} yoğunluk matris elemanlarını göstermektedir.

c) Elektronik enerjiler,

$$E_A = 2 \sum_{k=1}^{N_A} P_{kk} U_{kk}^A + \sum_{k=1}^{N_A} \sum_{m=1}^{N_B} (2P_{kk} P_{mm} - P_{km}^2) \Gamma_{AA} \quad (3.14)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada, E_A elektronik enerjiyi, N_A ve N_B A ve B atomlarında dikkate alınan orbitallerin sayısını, P_{kk} , P_{mm} ve P_{km} ; k ve m orbitallerinin yoğunluk matrislerini, U_{kk}^A iyonlaşma potansiyeli, Γ_{AA} ise bir atom içinde değişik orbitallerde yer alan iki elektronun karşılıklı etkileşme integralini gösterir.

d) Bağlanma enerjisi,

$$E_{AB} = \sum_{k=1}^{N_A} \sum_{m=1}^{N_B} (4P_{km} \beta_{km} - 2P_{km}^2 \Gamma_{AB}) + \frac{Z_A^* Z_B^*}{R_{AB}} - 2P_{AA} V_B^A + 4P_{AA} P_{BB} \Gamma_{AB} \quad (3.15)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada, E_{AB} bağlanma enerjisi, Z_A^* ve Z_B^* etkin çekirdek yükünü, V_B^A B atomunun k orbitalinde bulunan elektron ile A atomu çekirdeği arasındaki çekim integrali, P_{AA} ve P_{BB} A ve B atomlarının yük yoğunluk matrislerini, Γ_{AB} A atomunun k orbitalinde bulunan elektronla B atomunun m orbitalinde bulunan elektronun karşılıklı etkileşme integrali ($\Gamma_{km} = \Gamma_{AB}$)'dir.

e) Molekülün toplam enerjisi,

$$E_T = \sum_{\alpha > \beta}^k \sum_{\beta=1}^k \frac{Z_\alpha Z_\beta e^2}{R_{\alpha\beta}} + \sum_{k=1}^m \sum_{k=1}^m P_{km} (2H_{km} + \sum_{p=1}^m \sum_{q=1}^m (2 \langle km|V|pq \rangle - \langle kq|V|pm \rangle)) = \sum_{A=1}^k E_A + \sum_{A>B}^k E_{AB}$$

(3.16)

denklemleri ile hesaplanmıştır. Bu denklemlerde, Z_α ve Z_β α ve β atomlarının çekirdek yüklerini, E_A elektronik enerjiyi, E_{AB} bağlanma enerjisini, $R_{\alpha\beta}$ α ve β atomları arası uzaklığı, P_{km} ise k ve m orbitallerinin yoğunluk matrisini ifade etmektedir. $|V|$ ise $(Z_A^* Z_B^*) / R_{AB}$ ifadesine eşittir. H_{km} ; k ve m orbitallerinin çakışma integrallerine eşit bir değer olup $(H_{km} = S_{km} \beta_{km})$ ' dir. β_{km} ise $\beta_A^0 + \beta_B^0$ rezonans integralleri olan parametrelerin toplamına eşittir. β_A^0 ve β_B^0 parametreleri A ve B atomlarının türüne bağlıdır.

f) Molekülün reaksiyon merkezleri,

$$RM = \sum_{i=1}^N C_i$$

(3.17)

denklemleri ile bulunmuştur. Burada, RM reaksiyon merkezlerini, C_i atomik orbitallerin HOMO-LUMO'larının katsayılarını ifade etmektedir.

3.3. Elektron Konformasyonel (EC-QSAR)

3.3.1. EC Metodu

Bir molekülün biyolojik aktivite tahmini için gerekli olan; Pha , aktivitenin artmasında yardımcı olan (AG) ve aktivitenin azalmasında rol alan perdeleyici (APS) grupları tanımlamada kullanılan EC metodun temelleri verilecektir. Konformasyonel problem oda sıcaklığında yoğun olarak bulunan bütün konformerlerin dağılımlarını hesaba katarak çözüldü. İkinci önemli gelişme biyoaktivitenin nicel formülüne APS ve AG gruplarının doğru bir şekilde parametrize edilmesiyle başarıldı. Bu iki temel gelişmeyle biyoaktivitenin tahmini saf nitel olmaktan çıkarılıp nicel hale dönüştürüldü.

Her bir konformerin bulunma yüzdesini, enerjisini ve sıcaklığı bir fonksiyon olarak ekleyerek biyoaktivitenin nicel tahmini için bir formül çıkartılır. EC , Pha 'in APS ve AG grupların parametreleriyle tamamlanmasıyla, Pha fikrini biyoaktivite tahmini için nitel bir araç olmaktan çıkarıp nicel bir araca yükseltir.

3.3.2. Konformerlerin Belirlenmesi

EC -QSAR metodun aslı şudur; biyolojik aktivitesi bilinen ve inceleme altına alınan bir seri molekülün (training set) olduğu düşünülürse, bu setteki bütün bileşikler için aynı

deneysel metot uygulanarak aktivitelerin bulunması önemli bir aşamadır. İlgilenilen aktivite için sadece bir tek Pha'nın sorumlu olduğu düşünülür. Aktif moleküllerin aktiviteleri, her bir etkin konformerinin Pha'ı taşımasına göre değer alır. Bu konformerlerin etkileri, taşıdıkları atom pozisyonlarına göre aktiviteyi azaltır veya artırır. Tüm bu konformer özellikleri dikkate alınarak EC-QSAR programında yer alır. Programda çıkartılan fonksiyonel özellikler deneme serisi bileşikler için uygulanarak onların deneysel aktiviteleri teorik hesaplanan ile doğrulanır. Bir katkı sağlama yapıldığını ve aktivitesi tahmin edilmiş yeni bileşikler içinde aynı şey istenilir.

Çalışma sırasında öncelikle incelenen setin bileşiklerinin konformerlerinin enerjileri yaklaşık olarak hesaplanır ve oda sıcaklığında yoğun olarak bulunması beklenenler ayrılır. Daha sonra modern kuantum kimyasal metotlarla moleküllerin her birisinin bulunma ihtimali çok olan konformerlerin hepsinin elektronik yapısı hesaplanır. Eğer aynı veya yakın enerjilerde birden fazla konformer varsa düşük enerjili konformer bu küçük aralıkta bulunan konformerleri temsil edeceğinden diğerleri silinir.

3.3.3. ECMC Matrisleri Oluşturulması

ECMC molekülün hem elektronik hem de geometrik yapı özelliklerini içerir. Daha önceleri kullanılan bu yaklaşımın basit versiyonunda [85-86], her bir molekülü temsil eden ECMC için sadece en düşük enerjili olan temel hal (ground-state) konformer dikkate alınırdı. EC-QSAR programını kullanarak, relatif enerji farkı 1-1.5 kcal/mol'den yüksek olan konformerler atıldıktan sonra, geriye kalan düşük enerjili her bir konformer için ECMC matrisleri, (ECMC, Electron Conformational Matrix Congruity), oluşturulur.

ECMC, diyagonal elemanlarına göre simetrik olan kare matristir. Bundan dolayı simetrisinin üst tarafının kullanılmasıyla oluşan üçgen matris alınır. ECMC'de bağımsız elemanların tam sayısı $s*(s+1)/2$ dir. Burada s moleküldeki atomların sayısıdır. Molekülde atomların elektronik özelliklerini tanımlayan bir atomik parametre olan ve atomik yüklerden oluşan a_{ii} ECMC matrisinin diyagonal elemanlarıdır. Atomik yükler Mulliken elektronegativitesi ile hesaplanır. Matrisin non-diyagonal elemanları ise a_{ij} olup iki çeşittir; birincisinde eğer i ve j kimyasal olarak bağlı olan iki komşu atom ise, a_{ij} i-j bağının, bağ derecesi, wiberg sabiti, bağ enerjisi (toplam, kovalent, iyonik), HOMO (veya LUMO) katkısı veya polarlanabilirliği gibi elektronik parametrelerinden birisi olabilir. İkincisinde ise eğer i ve j bağ yapmamış iki atom ise, $a_{ij} = R_{ij}$ olur ve

atomlar arası uzaklık parametre olarak kullanılır. Bu yolla her bir ECMC, biyoreseptörle etkileşimi göz önüne alındığında, incelenen molekülün konformasyonel özelliklerini tam olarak ifade edebilen, hem a_{ii} ve a_{ij} elektronik karakterini hem de R_{ij} geometrik karakterini içerir [62]. a_{ii} ve a_{ij} elektronik parametreleri olarak da sadece atom yükleri ve bağ dereceleri kullanılırdı. Prensip olarak verilen bir konformerin R_{ij} aynı atomlar arası mesafeyi koruyarak elektronik parametrelerin a_{ii} sabit kalarak a_{ij} ile yukarıda bahsedildiği gibi değişik kombinasyonların en iyi elektronik tanımlayıcıyı bulmak için yapılabilir.

EC metodunda kullanılan ECMC nin diyagonal elemanları, ilgili atomun yüklerini gösterir. ECMC metodunda atom yükleri yaygın olarak kullanılmıştır. Döner-akseptör etkileşimlerinde ve H bağı oluşumunda çok önemli olan orbital kontrollü etkileşimlerde (ilaç-biyoalıcı etkileşim) ne atomik yük ne de onun türevi olan elektrostatik alan, dikkate alınır. I.B Bersuker çalışmalarında atom yükleri yerine ilgilenilen atomun yük-orbital kontrollü atom indeksini kullanmıştır. Biz bu çalışmalarımız da mulliken yüklerini kullandık.

Bu ifadeyi kısaca etkileşim indeksi (*II*) olarak adlandırmış ve A atomu için aşağıdaki formül ile göstermiştir [83].

$$II(A) = g^A \exp (-(2\alpha^A)^{1/2} R_0) \quad (3.18)$$

Burada g^A incelenen serideki bir molekülün, A atomunun en dış orbitalindeki elektron yoğunluğu (H için 1s orbitali, ikinci ve üçüncü grup elementleri için np dir); α^A , molekülde atomun valens orbitalinden elektronun iyonlaşma enerjisini belirtir, R_0 ise hedef atomun dalga fonksiyonu ile maksimum çakışmanın olduğu kabul edilen noktaya, elektron yoğunluğunun maksimum uzaklığını gösterir. Valens haldeki iyonlaşma potansiyeli, α^A , elektronik konfigürasyonun ve atomik yükün bir fonksiyonu olarak kolayca hesaplanabilir. Molekülün elektronik yapısı belirlenirse g ve α değerleri doğrudan elde edilebilir. R_0 değeri belirlidir. R_0 değerinin 2 au olduğu değer en uygun değerdir. Çünkü bu değer hidrojen atomu için yaklaşık 3 au, (1.5 Å), ve ikinci kabuktaki bir atom için 4 au, (yaklaşık 2.1 Å), değerini alır. *II* değerleri 0-1 arasında olup elektronik yapı hesaplamalarından doğrudan çıkartılabilir. *II* en yüksek değerde iken, en güçlü elektron döner veya proton akseptör, en düşük değerde iken en güçlü proton döner veya elektron akseptör özelliği sözkonusudur.

3.3.4. EC-QSAR’da Farmakofor Tanımlama

Tasarımdaki bir sonraki basamak; bütün ECMC’leri ilgili moleküllerin aktiviteleri ve matrisin diyagonal ve non-diyagonal elemanlarını verilen belirli tolerans aralıklarında, karşılaştırarak bütün aktif moleküller için ortak olan, inaktif moleküllerde ise bulunmayan elektron topolojik özellikleri tespit etmektedir. Bu çalışmalar EC-QSAR programı kullanılarak yapılır. Matriksleri karşılaştırmak için bileşik serisindeki yapı olarak en basit molekül referans olarak seçilir. (ETMC de ise aktifliği en fazla olan molekül referans olarak seçilir) Burada önce nitel olarak moleküllerin aktif-inaktif olarak sınıflandırılması gerekir. Bunun içinde sınır bir değer belirlenir. Bu değerden küçük olanlar inaktif, büyük olanlar ise aktif sınıfındadır. Bu sınırı tanımlarken aktif olmayanlar veya aktif denilemeyecek kadar küçük aktiviteye sahip olanlardan büyük bir değer alınır. Karşılaştırma işlemi yapılarak bütün aktif bileşiklerin bulundurduğu ortak özellik Pha olarak bulunur ve bu özelliği temsil eden ve matriks elemanları sayısı daha az olan, elektron konformasyonel alt matrisi (ECSA) oluşturulur. Eğer farklı elektronik yapı parametreleri denenmek istenirse (valens aktiviteleri, polarlanabilirliği, HOMO veya LUMO), ECMC oluşturulur ve ECSA, parantez içinde verilen yukarıdaki her bir parametre için tekrar bulunur, daha sonra farklı elektronik yapı parametreleri ile elde edilen ECSA karşılaştırması ile, inaktif bileşiklerden aktif bileşikleri ayırmada hangi parametrenin en iyi olacağı bulunur.

QSAR çalışmalarında bilinen yöntemlerin çoğu bileşiklerin enantiyomerlerinden birini diğerinden ayırmak için yetersiz kaldığı halde, ECMC de enantiyomerlerin farkı ortaya konulabilir. İki enantiyomerin matris elemanlarının mutlak değerleri aynı olmalarına rağmen, iki matrisdeki karşılıklı pozisyonları farklıdır (açı ve torsiyon açısı). Eğer ECSA (Pha) enantiyomerlerden birinde var ise, diğer enantiyomerde olmasını gerektirmez; eğer Pha her ikisinde de varsa, APS ve AG gruplarının pozisyonları farklı olacağından farklı aktiviteleri ortaya çıkarırlar. Moleküler sistemde atomları numaralandırma yolu (saat yönü veya tersi) önemlidir. Çünkü bu işlem ECMC de matris elemanlarının düzenini belirler. Bir tanesinin seçilmesiyle bütün konformerler ve enantiyomerler için korunur.

ECSA sonuçları, inceleme altındaki aktif Pha yı gösterir. Matris elemanları elektronik ve konformasyonel özelliklere karşılık geldiği için, ECSA prensip olarak, molekülün aktif konformeri, topoloji ve yük dağılımı ile açıklanan, aktif bölgesi (Pha) hakkında

bilgi verir. Tolerans değerlerinin verilmesi şartı ile, elektronik ve konformasyonel parametreler kullanılarak aktifliğin sayısal değeri, aktiflik kalitatif (aktiflik var yada yok) olarak bilindiği zaman bile kantitatif olarak elde edilebilir. Aktiflik kantitatif olarak bilindiği zaman bu işlem aktiflik değerinin her bir değeri için tekrarlanabilir ve daha sonra elektronik ve konformasyonel parametreler aktifliğin bir fonksiyonu olarak dikkate alınır. ECSA tarafından bulunan Pha tanımı, aktivite için yeni bileşiklerin taranmasında kullanılabilir.

Başlangıç farmakoforunu belirlemek için konformer sayısı az ve en basit yapıya sahip olan aktif yada inaktif bileşiklerden biri seçilir. Aktivitenin azalmasına ya Pha'nın olmaması yada APS grupların olması durumlarından biri katkıda bulunur. Başlangıç farmakofor deneme setinin kötü bir seçimi sonucu olumsuz etkiler, bu nedenle iyi bir sonuç elde etmek için daha fazla çalışma gerekir.

Bu durum, APS ye sahip olmayan benzer inaktif bileşikler ile karşılaştırılması ile de ilişkilidir. Bileşik serisindeki aktif ve inaktif bileşiklerin en iyi ayrımını yapmak için parametrelerin minimum aralığını (tolerans değerleri) karşılaştırmak için çok önemlidir. Pha deneme setinden elde edilen ECSA, diğer aktif bileşiklerin ECSA ları ile karşılaştırılır.

ECMC'nin ETMC ye göre diğer üstünlüğü de AG [86-87] ve APS grupları [81-82] tanımlayarak hesaba katmasıdır. Bu grupların aktiviteye katkıları, EC programını kullanarak, Pha ile birlikte hesaplanmıştır. Aslında Pha'ı bulunduran bir konformerdeki her bir atomun aktiviteye sayısal bir değer yansıtması söz konusudur ancak bu atomların incelen seri içinde en çok molekül içinde bulunan ve en etkili olanları göz önüne alınabilmektedir.

3.3.5. APS ve AG

Yukarıda belirtildiği gibi, Pha aktivite için çok önemli şartlardan biri olmasına rağmen tek başına yeterli değildir. Aynı Pha ya sahip farklı bileşiklerin neden, oldukça farklı aktivite gösterdiğini açıklayamaz. Pha aktivite için gerekli bir grup atomu içerir ancak molekülde Pha dışında aktiviteye etki eden diğer gruplarda bulunmaktadır. Bu gruplar atomlar olabildiği gibi atom grupları da olabilir ve aktiviteyi artırıcı ya da azaltıcı etki gösterebilirler. Bunlar sterik sınırlamalara neden olan APS gruplar ve aktiviteye hidrofobisite gibi etkilerle katkıda bulunan AG gruplardır. AG gruplar hidrofobisiteyi

artırıcı özellik gösterebilirler veya biyoalıcı ile H-bağı yapabilirler. Bu atomların bu özellikleri aktiviteyi artırıcı özelliktir. APS gruplar ise biyoalıcı ile etkileşim esnasında sterik engel veya perdeleme yaparak aktiviteyi azaltıcı yönde etki ederler.

Pha dışındaki bazı gruplar biyoalıcı ile etkileşime katılmaz. Pha ile bu inert gruplar temel iskeleti oluştururlar. Pha ile temel iskelet arasındaki fark, yaklaşık olarak aynı aktiviteye sahip olan bileşikler için ECMC elemanlarının farklı olması veya bu elemanların olmamasıdır. Bu gruplar, eğer varsa, Pha'nın dışında kalmış fazla etkisi olmayan bölgelerini veya biyoalıcının boşluklarındaki bazı boş yerleri işgal edecekleri için hiçbir katkıda bulunmazlar ve bunlar ligand-biyoalıcı etkileşimine katılmazlar. Temel iskelet kabaca, yaklaşık olarak aynı aktiviteye sahip farklı bileşiklerin üst üste çakışmaları ile ortaya çıkarılabilir. Bazı moleküller, temel iskelet bölgesinin içinde boşluğa sahiptirler.

AG ve APS grupların etkisi onların pozisyonuna ve reaktifliğe bağlıdır. Benzer durumun Pha da olduğu bilinmektedir. Pha atomlarından farklı olarak, (Pha geometrisi ve elektronik parametreleri), APS ve AG grupların parametreleri bir bileşikten diğerine tamamen değişir. Bu grupların her birinin aktiviteye katkısını açıklamak için ECMC den elde edilen elektronik ve yapısal parametreler kullanılır. Bileşikten bileşiğe APS ve AG grupları ve bu grupların pozisyonları değiştiği için bu parametrelerin (sayısı ve çeşitliliği) seçimi kısmen keyfidir. Bunların seçimi için en iyi model regresyon analizidir [63]. APS ve AG'ye karar vermek için aktif bileşiklerin üst üste çakıştırılmış yapılarını incelememiz gerekir. Biyoalıcıdaki konformasyonel değişiklikler bilinirse AG doğrudan hesaplanabilir ancak çalışmalarda biyoreseptör bilinmediği için AG yi tanımlamak daha zordur [62].

3.3.6. Aktivitenin Genel Formülü

APS grupları aktiviteyi kısmen veya tamamen azaltan ve sterik engele neden olan atom grupları olarak da tanımlanır. Eğer biyoalıcı yapısı biliniyorsa hem sterik engeli hemde aktiviteyi azaltan yükleri doğrudan hesaplanabilir. Biyoalıcının yapısı bilinmiyorsa bu

işlem zorlaşır. Bu problemi çözmek için, Pha da olduğu gibi bileşiklerin relatif aktivite değerleri ile yapısal ve elektronik parametrelerin istatistiksel karşılaştırılması yapılabilir. Bunun için hem sterik engelleri hemde aktiviteyi azaltan yükleri ortaya çıkarmak için APS değerlerini kantitatif olarak (sayısal olarak) karakterize eden S ile gösterilen bir parametreyi dikkate alırız. Bileşikler ile biyoalıcılar arasındaki etkileşim diğer moleküller arası etkileşim (en azından, sterik ve diğer enerji bariyer faktörleri göz önüne alınabilir) ile benzediğinden dolayı aktivitenin (A) eksponansiyel olarak (e üzeri bir fonksiyon olarak) S ye bağlıdır. Yani AG ve APS gruplarının etkisini hesaba katmak için aktiviteyi artıran yada azaltan S fonksiyonunu kullanırız. S fonksiyonu AG ve APS'yi temsil eden bir grup parametreye bağlıdır.

$$A \sim e^{-S} \quad (3.19)$$

Molekül-biyoalıcı etkileşiminde AG ve APS grupları $\exp(-E_n/kT)$ nin bir faktörü olarak E' miktarı kadar aktiviteyi artırır yada azaltırlar. APS için $E > 0$ ve aktivite azalırken, AG grupları için $E < 0$ ve aktivite artar. $S_{ni} = E_{ni}/kT$ olarak gösterilmiştir ve genel olarak S fonksiyonu aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir.

$$S_{ni} = \sum_{j=1}^N \kappa_j a_{ni}^{(j)} \quad (3.20)$$

Burada $a_{ni}^{(j)}$, (ECMC de verilen a_{ii} parametrelerden farklıdır.) n'inci bileşiğin i'inci konformerindeki APS veya AG nin j'inci tür özelliğini temsil eden (bağ açısı, torsiyon açısı, yük, II ve atomlar arası uzaklık) bir parametre olup her bir problem için spesifik olduğu söylenilebilir. N seçilen AG parametrelerinin sayısı ve κ_j toplu analiz sonucundan elde edilen değişken bir katsayıdır.

$a_{ni}^{(j)}$ parametresinin seçimi önemlidir. Pha için $a_{ni}^{(j)}$ parametresi atomik etkileşim indeksi, II, değerleri ve ECSA dan elde edilen Pha atomları arasındaki mesafeler olarak alınabilir. APS gruplar için $a_{ni}^{(j)}$ parametresinin seçimi daha fazla kimyasal bilgileri gerektirir. APS parametreleri ise Pha nın ve temel iskeletin dışında kalan pozisyonlarına göre belirlenen sterik faktörler olarak alınır. κ_j değerleri farklı birimlerde verilebilir ve birimsiz bir ifadedir. κ_j nin daha büyük değeri, hesaplanan biyoaktiviteye karşılık gelen parametrelerde daha etkilidir. $\kappa_j > 0$ için aktivite bu bileşiklerde artar. Kısacası κ_j katsayısının mutlak değerinin büyüklüğü, aktivite üzerindeki etkiyi gösterir ve APS ve

AG gruplarını üç boyutlu yapı içinde tanımak Pha'dan sonra ikinci derecede öneme sahiptir.

Konformasyonel analiz, bilgisayar destekli ilaç tasarımında genellikle oldukça karışık olarak görülen bir problemdir ve çoğunlukla organik yapılara sahip ilaç moleküllerinin birçok konformeri vardır. Bu nedenle bu problemi basitleştirmek için ilaç-biyoalıcı bağlanmasındaki enerji farklılıkları için, (3.20) eşitliği ile birlikte sıcaklığın ve enerjinin bir fonksiyonu olarak her bir konformerin Boltzman dağılımını hesaba katarak n. bileşik için aktivite genel formülünü aşağıdaki eşitlik halinde elde ederiz:

$$A_n = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_n} \delta_{ni}[Pha] e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT}} \quad (3.21)$$

A_0 aşağıda açıklanacağı üzere sabittir ve m_n n. molekülün konformer sayısıdır. Bu formülde δ , Dirac δ fonksiyonunun bir çeşididir ve $\delta_{ni}[Pha]$, Pha bulunduğu zaman 1, Pha bulunmadığı zaman 0 dır.

Bu formülde sadece Pha'i bulunduran konformerler aktiviteye katkıda bulunur ve bu katkılar onların APS ve AG gruplarının etkilerine göre ağırlıklı olarak alınır ve enerji aktif konformasyonlardaki moleküllerin relatif sayısına bağlıdır. Bu sayılar E_{ni} konformerin enerjisiyle hızla azalır. (E_{ni} de konformasyonun enerji değeri yaklaşık 2.8 kcal/mol ise tüm konformerler göz önüne alındığı zaman bu değerin katkısı 0.01 den daha azdır.)

Bu formülde A_0 sabittir ve bu değeri belirlemek için, çalışılan molekül setinden (training set) aktivitesi bilinen bir referans molekül (I) seçeriz ve bu molekül için aktiviteyi (A_I) aşağıdaki eşitlik ile hesaplarız.

$$A_I = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_I} \delta_{Ii}[Pha] e^{-S_{Ii}} e^{-E_{Ii}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_I} e^{-E_{Ii}/kT}} \quad (3.22)$$

A_n ve A_l için yazılan bu iki formül birleştirilirse A_0 lar birbirini götürüleceği için bilinmesine gerek kalmadan aşağıdaki formül elde edilir.

$$A_n = A_l \frac{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT} \sum_{i=1}^n \delta_{ni}[Pha] e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT} \sum_{i=1}^{m_l} \delta_{li}[Pha] e^{-S_{li}} e^{-E_{li}/kT}} \quad (3.23)$$

Bu formüle bağlı olarak önemli yoğunluktaki konformerlerin kuantum kimyasal hesaplamaları Spartan ES programı ile yapılır ve daha sonra EC-QSAR programı ile ECMC matrisleri oluşturulur. Daha sonra ECMC, aktiviteyi tahmin etmek için Pha'nın ve APS/AG grupların etkisinin açıklanmasında kullanılır. APS/AG grupların parametrelerinin tahmini, onları ECMC den ayıracak bir algoritma bulunmadığı için zaman alıcıdır ve böylece her bir konformer için ayrı ayrı hesap yapılması gerekir. Özellikle reseptör yapısı bilinemediği durumlarda, reseptörle etkileşim sırasında molekülün yapısında meydana gelen konformasyonel değişim ihtimalinden dolayı belirsizlik ortaya çıkar.

Bu problem molekül-biyoalıcı etkileşimlerinin bazı genel özelliklerini dikkate alarak çözülmüştür. İlk olarak, enzim katalizli reaksiyonlarda, reaksiyonun daha önceden dengede olduğu hesaba katılarak Boltzman dağılımı kullanılır. Önemli bir nokta da, önemli yoğunluktaki konformerlerin arasında 2-3 kcal/mol olan enerji farkından daha büyük olan (10-20 kcal/mol) substrat-enzim bağlanma enerjisidir. Bu durumda ligandın en az bir konformeri Pha ya sahiptir ve diğer tüm konformerler enerji kazanmak ve resptöre bağlanmak için denge dönüşümüne uğrarlar.

Pha'ya sahip olan konformer P ile gösterilirse enerjisi E_{np} olur. (en düşük enerjili konformeri $E_{n0}=0$ olarak gösterilir.) Pha sahip birçok konformer varsa p biyoalıcıya en iyi bağlanandır ve genellikle en düşük E_{np} değerindedir. Reseptöre bağlandıktan sonra bağ yapmış durumdaki bu konformerin enerjisi $E_{np} + E'_{np} - \Delta$ olur. Burada E'_{np} APS ve AG grupların katkısı ve Δ molekül-biyoalıcı bağlanma enerjisidir. $\Delta > \delta$ olursa bu bağlanma en düşük enerjilidir. (Bkz. Şekil.3.1.) Termal dönüşümden sonra diğer tüm konformerlerin enerjileri E_{np} ve dengede bağlanma enerjisi $E_{ni} - [\Delta - (E_{np} + E'_{np})]$ olur.

$$A_n = A_0 \frac{\sum_i \exp\left[\left(-E_{ni} + \Delta - E_{np} - E'_{np}\right) / kT\right]}{\sum_i \exp\left(-E_{ni} / kT\right)} = A_0 \exp\left[\left(\Delta - E_{np} - E'_{np}\right) / kT\right] \quad (3.24)$$

$\exp\Delta$ sabittir ve A_0 a dahil edilebilir. Yukarıdaki formülde $S_{np} = E'_{np} / kT$ eşitliği kullanılarak

$$A_n = A_0 e^{-E_{np} / kT} e^{-S_{np}} \quad (3.25)$$

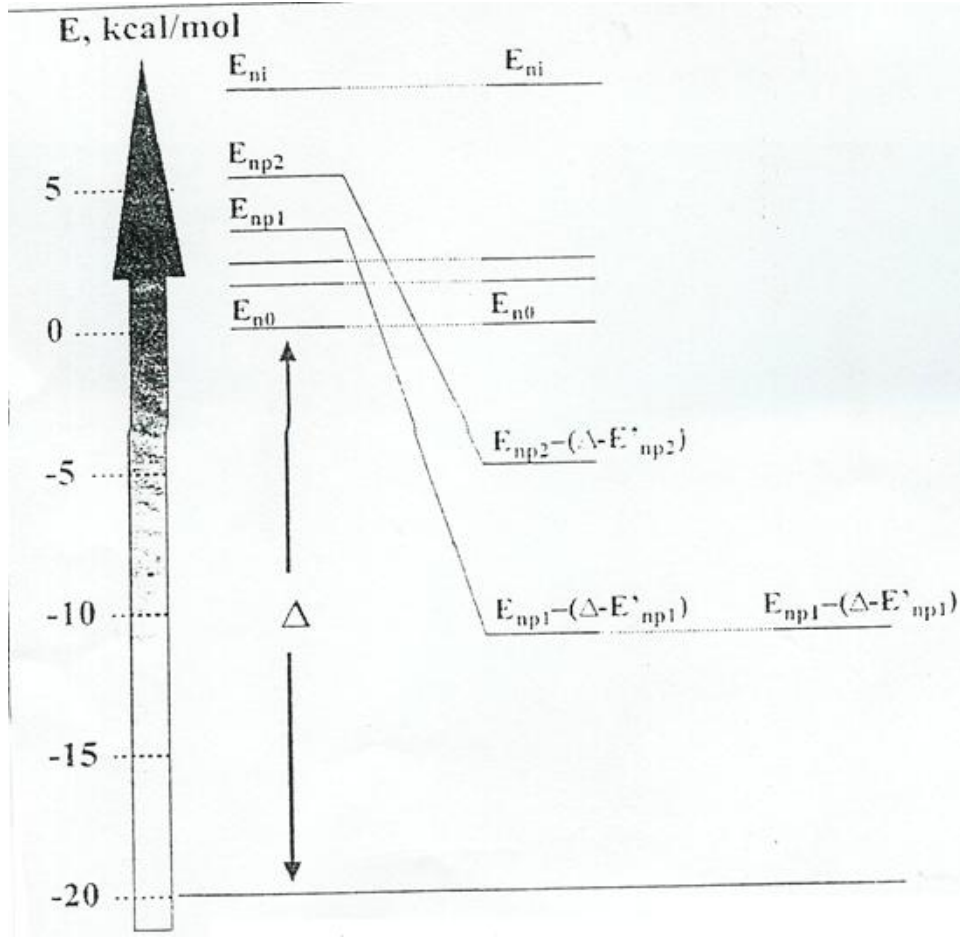
eşitliğini yazabiliriz. Aktivitesi A_1 olarak bilinen, 1 referans bileşiği ile karşılaştırılarak A_0 belirlenir. Böylece eşitlik:

$$A_n = A_1 e^{-(E_{np} - E_{1p}) / kT} e^{-(S_{np} - S_{1p})} \quad (3.26)$$

haline dönüşür. Bu formül sadece, Pha ya sahip en düşük enerjili konformerin biyoaktiviteyi tahmin etmek için kullanılır. Elde edilen bu son formül Eşitlik 3.23 ün basitleştirilmiş halidir. Çünkü eksponensiyal faktörden dolayı, $\exp(-E'_{np} / kT)$, yüksek enerjili konformerler ihmal edilir. (oda sıcaklığında E_{np} değeri yaklaşık olarak 1.5 kcal/mol olduğu için $\exp(-E'_{np} / kT)$ ifadesinin sayısal değeri yaklaşık 0.08 dir.) çoğu durumda Pha temel hal koformasyonunda bulunur.

Molekül setindeki bileşiklerin bilinen deneysel aktiviteleri kullanılarak yukarıdaki formül işletilir ve hesaplanan aktivite değeri, A_n^{calc} , deneysel aktivite değeri, A_n^{exp} , ve M molekül sayısı olmak üzere, $\sum_n^M |A_n^{\text{calc}} - A_n^{\text{exp}}|^2$ fonksiyonu üzerinden en küçük kareler yöntemi kullanılarak değişken κ_j katsayıları elde edilir.

Bu yolla elde edilen κ_j ile aktiviteleri bilinmeyen aynı tür başka bileşikler için aktivite tahmini yapılabilir. Bu çalışmada 21 molekül içeren adenosin türevleri için aktivite tahmini bu yolla yapıldı. Bağlı durumda olmayan yani serbest haldeki ilaç molekülünün (substrat) konformerlerinin ve bağ yapmış ilaç-biyoalıcı yapısının enerji karşılaştırmaları Şekil 3.1. de verilmiştir.



Şekil 3.1. Serbest Haldeki İlaç Molekülünün Konformerlerinin Ve Bağ Yapmış İlaç- Biyoalıcı Yapısının Enerji Karşılaştırmaları.

Δ , Pha dan dolayı SE bağlanmasının enerji farkıdır ve E'_{np} ise APS ve AG gruplarından dolayı bağlanma enerjisindeki azalmadır. Bağlanma ve dönüşümden sonra yani 300 K de E_0 yerine $-\Delta + E_{np} + E'_{np}$ eşitliği kullanılır [63].

3.3.7. Matris Karşılaştırması İle ECMC ve ECSA'nın Hesaplanması

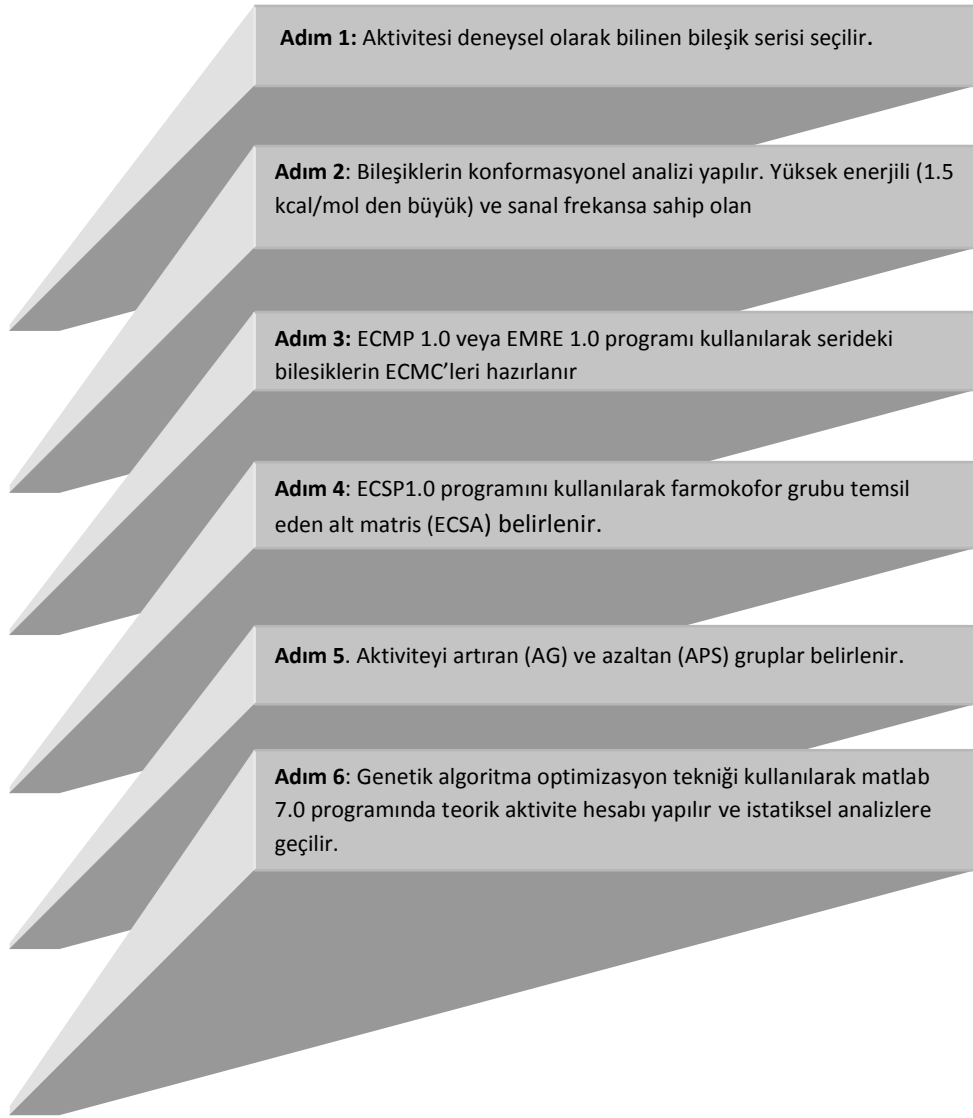
Bu metodun genel şeması Şekil 3.2.'de gösterilmiştir. Karşılaştırma işleminin yapılması için gereken programlar ve algoritmaların temeli, elektronik yapı hesaplamaları ve semiempirik simülasyonları (Spartan gibi) için kullanılan ticari paket programlara dayanır. Konformasyonel analiz semiempirik hesaplamaları ile yapılırken, elektronik yapı hesaplamaları semiempirik PM3 hesaplamaları ile gerçekleştirilmiştir.

Referans bileşiğin ECMC sinden başlayarak, program ikinci matrisin diyagonal elemanlarının hepsini bulur. Verilen toleranslar her iki matris içinde aynıdır ve her iki matriste de çakışmayan diyagonal elemanlar için sıfır konulur. Daha sonra non diyagonal elemanlar satır ve sütunlara yerleştirilir. İkinci matris ilk matriste aynı değerler ile iki diyagonal elemanın satır ve sütunlarını işgal eder. Tekrar çakışan diyagonal matris elemanları korunur, oysa çakışmayan elemanlar sıfır olarak elde edilmiştir. Benzer diyagonal elemanlar nondiyagonal yerlerde sıfıra ek olarak, diğer diyagonal elemanlara bağlı sıfır olan nondiyagonal elemanlara sahiptir.

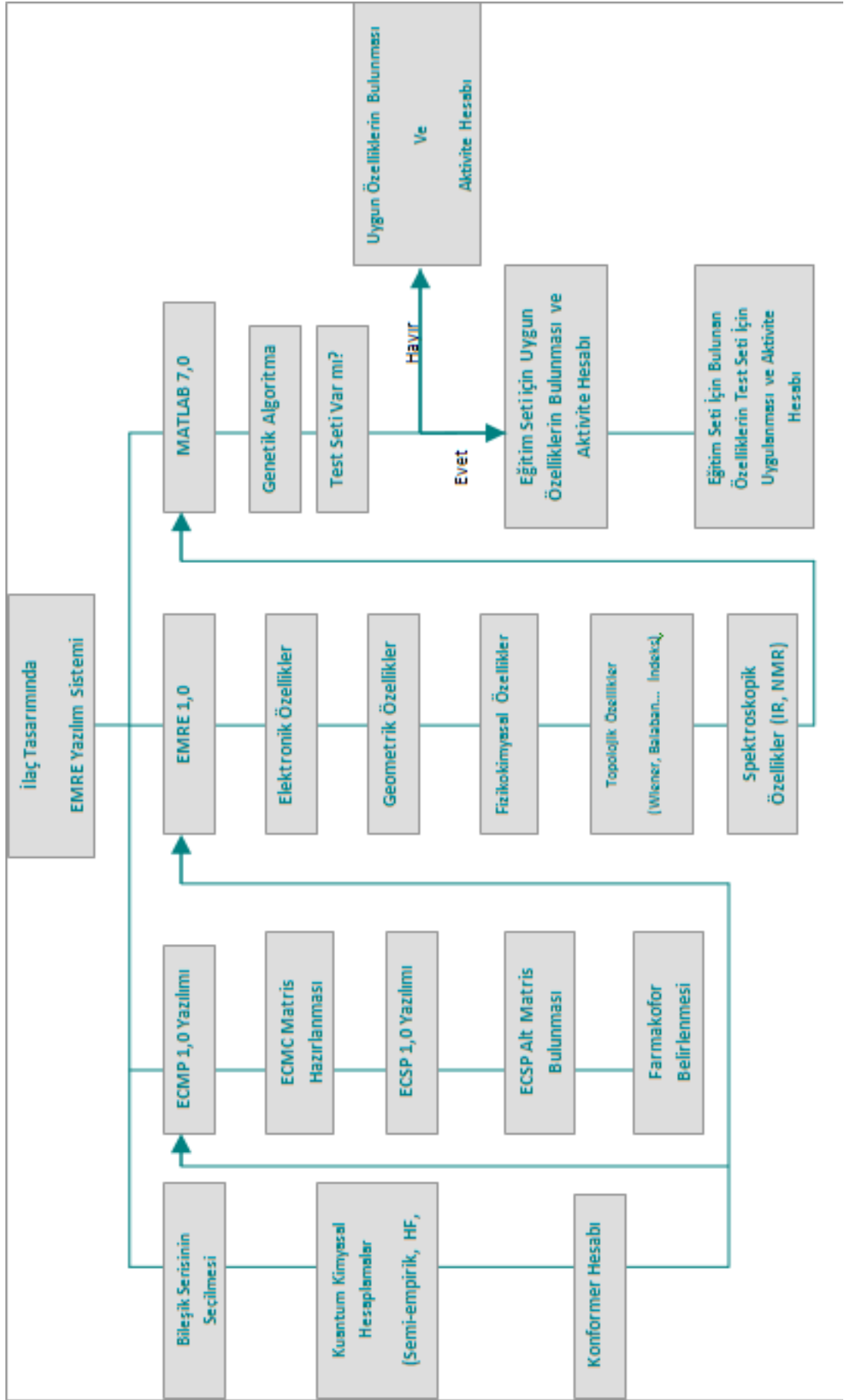
Bu işlemin sonuçları matriks elemanları için verilen toleranslara bağlıdır. Büyük değerdeki toleranslar büyük ve genel alt matrisleri oluştururken, küçük tolerans değerleri ise deneme setinde ECSA'yı vermeyebilir. Bu nedenle bu toleransların iyi kontrol edilmesi gerekir ve bu kontrol dikkatli bir şekilde yapılır. İlk olarak, belli bir aktiviteye sahip olduğu bilinen referans (en basit yapı konformer) bir bileşik seçeriz. Böylece ECMC'nin farmakofor içerdiği kesin olarak belirlenmiş olur. Daha sonra referans bileşik ile diğer bütün aktif bileşiklerin ECMC'sinin karşılaştırılması, önce relatif olarak büyük tolerans değerlerini alarak gerçekleştirilir. Başlangıç tolerans değerleri elektronik (kimyasal olarak bağlı çiftler için diyagonal ve non diyagonal) ve geometrik parametreler için farklıdır. Toleranslar değerleri iyi bir sonuç elde edilinceye kadar azar azar düşürülür.

Bilgisayar hızına bağlı olarak matriks karşılaştırması çok kısa zamanda gerçekleştirilebilir. Çakışan matriks elemanları hemen elde edilir. Fakat karşılaştırma işleminde bazı bileşikler için çok büyük sayılar ortaya çıkabilir, bu süreyi uzatabilir. Bilgisayarla yapılan kıyaslamalarda sonuca ulaşmak için karşılaştırılacak sayıların fazla olması gerekir. Bu işlemi basitleştirmek için, tercihen APS ve AG grupların aktiviteye etki etmediği, en küçük molekül yapılı en az sayıda aktif bileşik, Pha'yı belirlemek için

ilk adım olarak hesaplanır. Tahmini Pha'nın belirlenmesi için daha küçük bir molekül serisi seçimi belli bir kontrol ile yapılır. Daha sonra, ilk bulunan Pha'ya göre diğer bileşiklerin hepsi kontrol edilir. Bütün aktif bileşiklerin aynı Pha'ya sahip olduğu farz edildiği için, molekül serisindeki en basit bileşiklerin sınırlı sayısından elde edilen Pha için ilk değerler, sonucu kesinleştirmek için relatif olarak küçük değişimler yapıldığında büyük değişiklikler meydana gelir.



Şekil 3.2. Çalışmada İzlenecek Adımlar



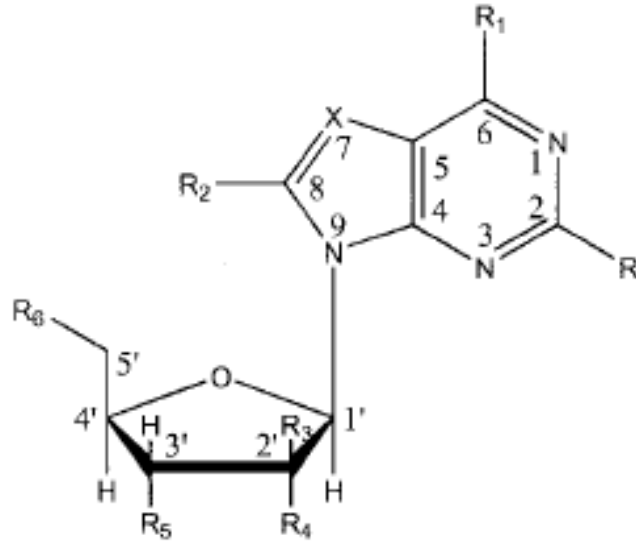
Şekil 3.3. İlaç Tasarımında Emre Yazılım Sisteminin Basamakları

4. BÖLÜM

BULGULAR

4.1. Adenosin Serisindeki Bulgular

1. adımda deneysel aktivitesi bilinen Adenosin serisinden 21 adet bileşik alınmıştır. Tablo 4.1 'de çalışılan bileşik serisinin temel iskeleti ile bu iskelete bağlı olan substituentler gösterilmiştir.



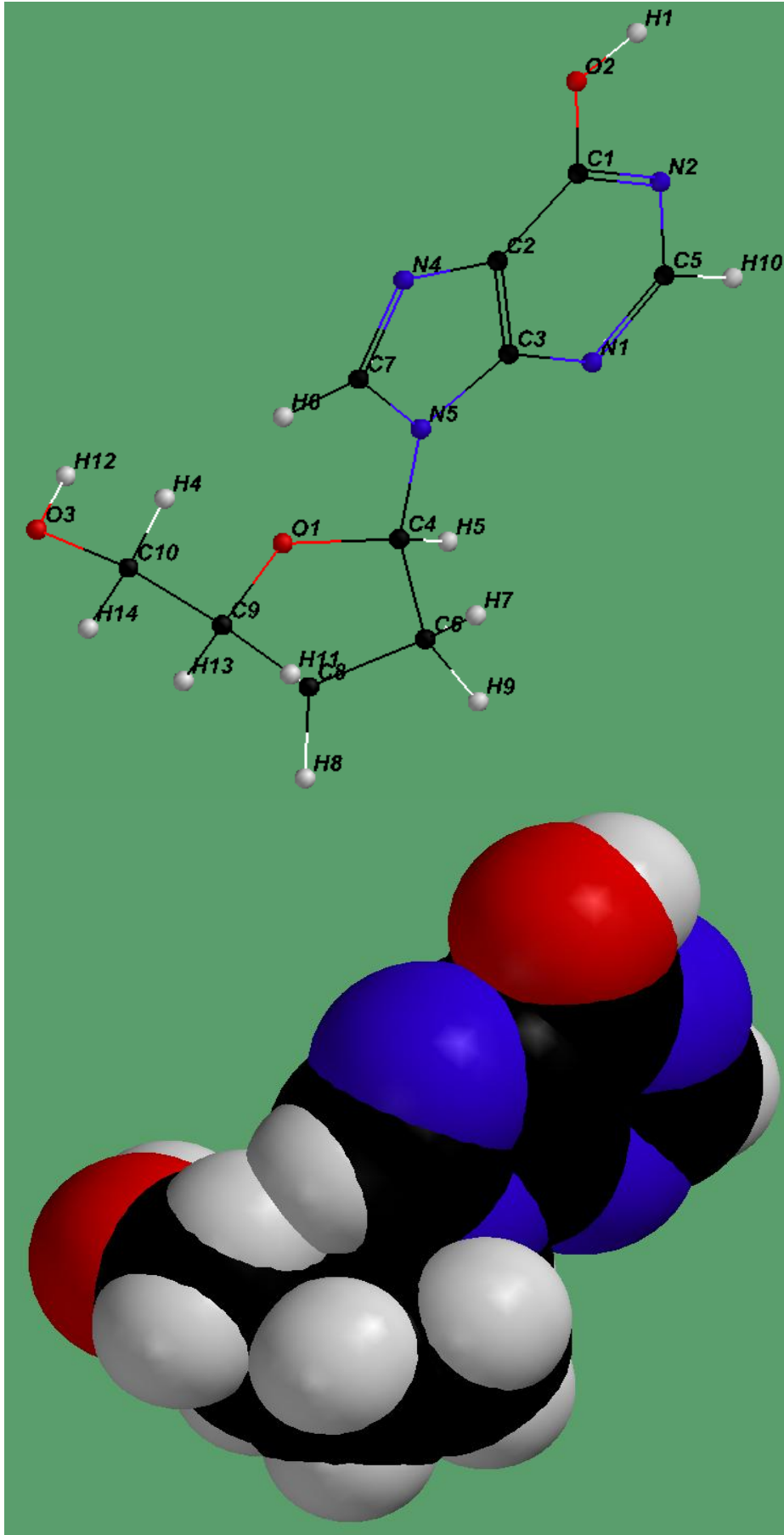
Tablo 4.1. Adenosin Serisinin Temel İskeleti ile Bu İskelete Bağlı Olan Substituentler.

Bileşik	X	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
A1 Adenosin	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH
A2 İnosin	N	H	OH	H	H	OH	OH	OH
A3 Guanosin	N	NH ₂	=O	H	H	OH	OH	OH
A4 1-Metiladenosin*	N	H	=NH	H	H	OH	OH	OH
A5 2-Kloradenosin	N	Cl	NH ₂	H	H	OH	OH	OH
A6 2'-Deoksiguanozin	N	NH ₂	=O	H	H	H	OH	OH
A7 2'-Dideoksiinosin	N	H	OH	H	H	H	OH	OH
A8 2'-Deoksiadenosin	N	H	NH ₂	H	H	H	OH	OH
A9 3'-Deoksiadenosin	N	H	NH ₂	H	H	OH	H	OH
A10 2',3'-Dideoksiadenosin	N	H	NH ₂	H	H	H	H	OH
A11 2',3'-Dideoksiinosin(ddI)	N	H	OH	H	H	H	H	OH
A12 N ⁶ -Metiladenosin	N	H	NHCH ₃	H	H	OH	OH	OH
A13 N ⁶ ,N ⁶ -Dimetiladenosin	N	H	N(CH ₃) ₂	H	H	OH	OH	OH
A14 7-deazoadenosin	C	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH
A15 8-Bromadenosin	N	H	NH ₂	Br	H	OH	OH	OH
A16 5'-Deoksiadenosin	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	H
A17 AF-Adenin(Vidarabin)**	N	H	NH ₂	H	OH	H	OH	OH
A18 2-Klor-2'-Deoksiadenosin(Cladribin)	N	Cl	NH ₂	H	H	H	OH	OH
A19 2-Flor-AF(Fludarabin)	N	F	NH ₂	H	OH	H	OH	OH
A20 Hipoksantin	N	H	=O	H	H	OH	OH	OH
A21 AF-Hipoksantin	N	H	=O	H	OH	H	OH	OH

*Metil Grubu N1 Atomuna Bağlanmıştır. Dolayısıyla N1-C6 Çift Bağı C6-R₁ Pozisyonuna Kaymıştır.

** AF= 9-β-D-Arabinofuranosil

Seride aktivitesi en yüksek A11 bileşiği için top-çubuk ve uzay dolum görünümü ve atomların numaralandırmaları Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. A11 Bileşiği İçin Top Çubuk ve Uzay Dolum Modelleri

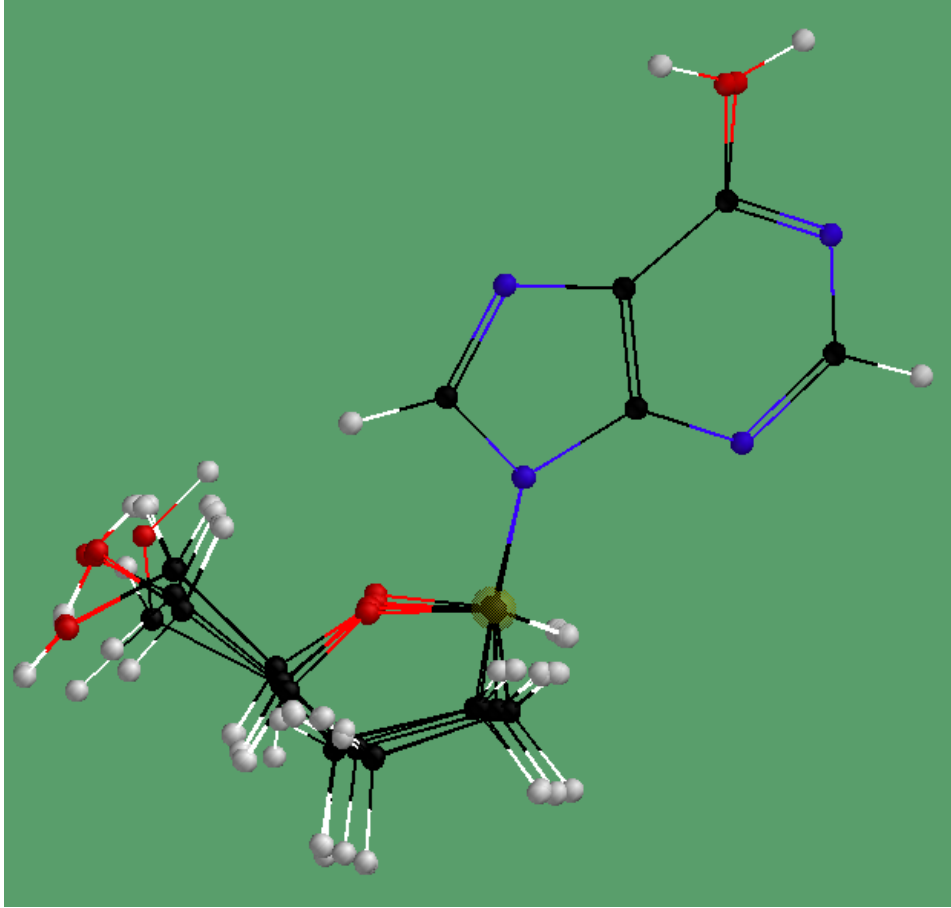
Moleküllerin konformasyon analizi Spartan ES paket programındaki semiempirik, PM3 metodu ile yapılmıştır. Semiempirik, bir molekülün konformasyon enerjisini ve yapısını çıkarmak için kullanılan hesap metodudur. Bu metotta molekülün toplam potansiyel enerjisini minimum yapan molekül yapısı bulunmuştur. Moleküldeki atomlar arasında mümkün olan tüm karşılıklı etkileşimler dikkate alınarak hesaplamalar yapılır. Kullanılan program oldukça hızlıdır ve enzimler gibi büyük yapıli sistemler için dahil tepkime ısısı ve konformasyon kararlılığı gibi nicelikler kolaylıkla hesaplanabilir.

Kanser, büyüme kontrolünün bir ya da birkaç hücrede kaybedildiğı bir hastalıktır ve tümör olarak bilinen sert bir hücre kitlesine yol açar. Primer tümör olarak bilinen başlangıç tümörü çoğu zaman damar ve organları tıkayarak yaşam tehdit edici bir hal alır.

Sitokininler hücre bölünmesini düzenleyen bitki büyüme maddelerinin (bitki hormonları) bir sınıfıdır ve hücre bölünmesi, farklılaşma ve diğer fizyolojik olaylarda yer alırlar [88]. İki tip sitokinin vardır: adenin tipi ve fenilürea tipi [89]. Çalışmada ele alınan ise adenosin türevleridir.

2. adımda ise, çalışmada yer alan bileşikler için Spartan programı kullanılarak PM3 yöntemi ile yapılan konformer hesaplamalarında her bir bileşik için yaklaşık 90-100 konformer bulunmuştur. Ancak relatif enerji değerleri ile boltzman dağılımları karşılaştırılırsa, relatif enerji değeri azaldıkça boltzman dağılımı değerlerinin arttığı (boltzman dağılımının yüksek olması oda sıcaklığında düşük enerjili olanların bulunma ihtimalinin daha fazla olduğunu gösterir) görülmüştür. Relatif enerjisi 1.5 kcal/mol den büyük olanlarda bu dağılım oldukça küçük (yaklaşık 10^{-4} - 10^{-5}) olmaktadır. Literatürde verilen bilgilere göre [90] 1.50 kcal/mol den büyük olan konformerler ihmal edilmiştir. Kalan konformerler arasında üst üste çakıştırma işlemi (align) yapılmış ve birbirinin aynı ya da yakın enerjili olan birden fazla konformer varsa yüksek enerjili konformerler silinmiştir. Küçük relatif enerjili olan ve üst üste çakışmayan bileşiklerin konformerlerinin Spartan çıktıları *.txt dosyaları halinde kaydedilmiştir. Seride 21 bileşik ve 221 konformer bulunmaktadır. Hepsi için konformer hesaplamaları ve üst üste çakıştırma işlemleri yapılmış ancak bu raporda, çok sayıda konformerin gösterimi oldukça uzun olacağından, sadece en aktif A11 bileşiğı için Şekil 4.2.'de

konformerlerin üst üste çakışması gösterilmiştir. Bu şekilde, yüksek enerjili ve birbirinin aynı olan konformerlerin silinme işleminden sonra, üst üste çakıştırılmayan ve farklı enerjilere sahip olan yedi adet konformeri görülmektedir.



Şekil 4.2. A11 Bileşiğinin Konformerlerinin Üst Üste Çakışması

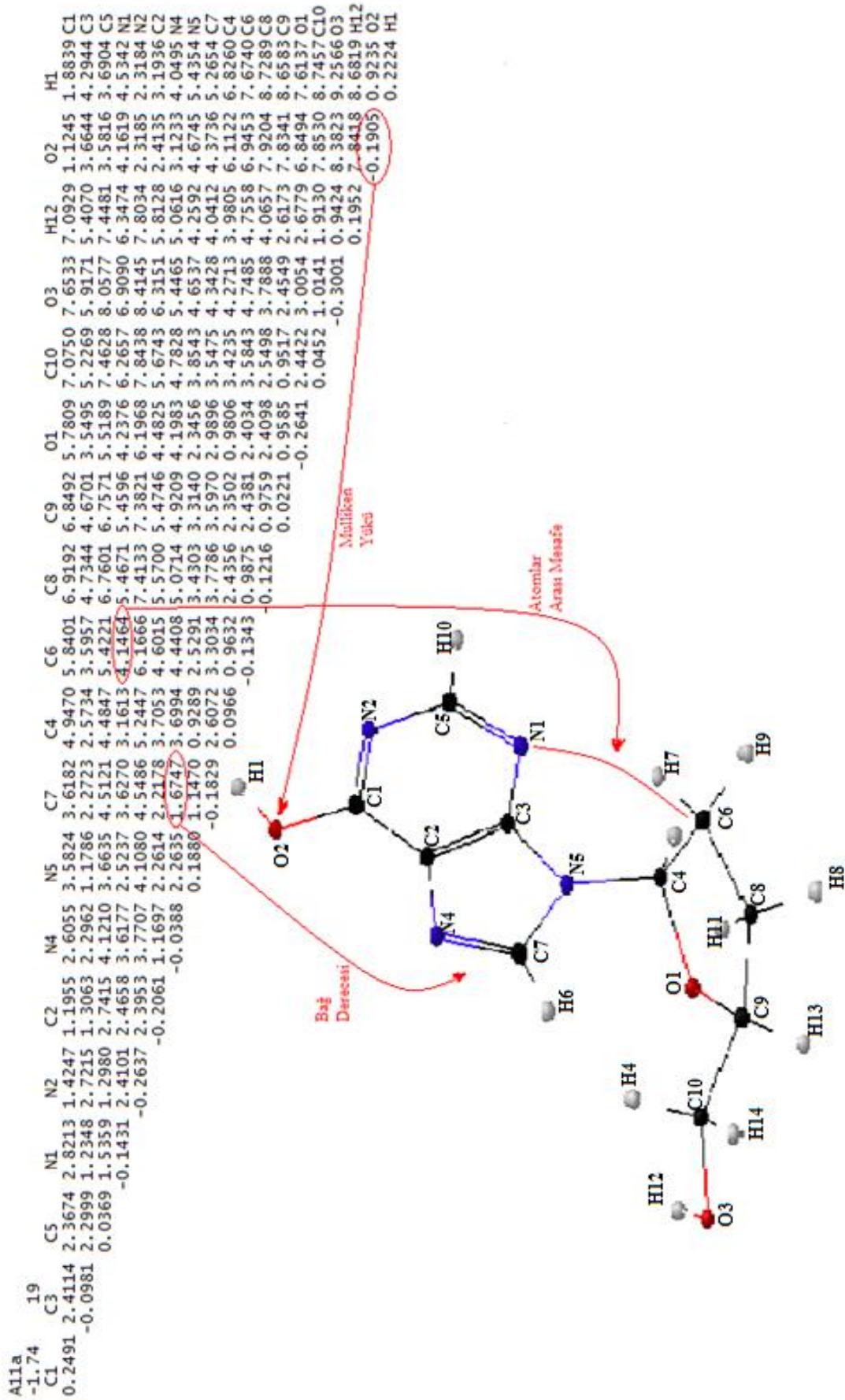
Adım 3 te; Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinde atomların yükleri, kartezyen koordinatları, bağ dereceleri ve atomlar arası mesafeler ile moleküle ait enerjiler kullanılarak Elektron Topolojik Matris (**ETMC**) oluşturulmuştur. **ETMC**, diyagonal elemanlarına göre simetrik olan kare matristir. Bundan dolayı simetrisinin üst tarafının kullanılmasıyla oluşan üçgen matris alınmıştır. **ETMC**'de bağımsız elemanların tam sayısı $s*(s+1)/2$ dir. Burada s moleküldeki atomların sayısıdır. Molekülde atomların elektronik özelliklerini tanımlayan bir atomik parametre olan ve atomik yüklerden oluşan a_{ii} **ETMC** matrisinin köşegen (diyagonal) elemanlarıdır. Atomik yükler Mulliken elektronegativitesi ile hesaplanır. Matrisin non-diyagonal

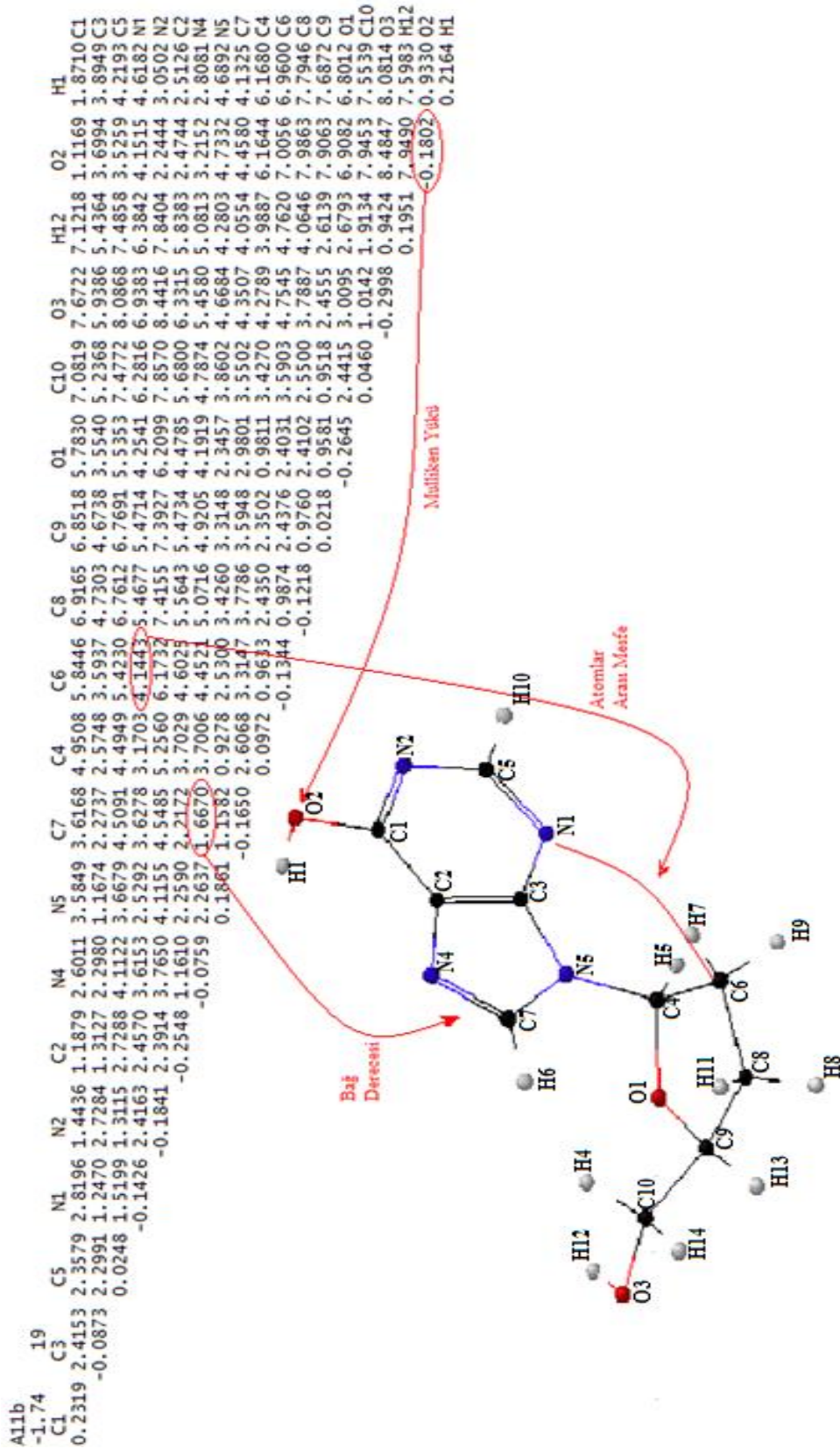
elemanları ise a_{ij} olup iki çeşittir; birincisinde eğer i ve j kimyasal olarak bağlı olan iki komşu atom ise, a_{ij} i - j bağının, bağ derecesini (wiberg sabiti) gösteren bir elektronik parametredir. İkincisinde ise eğer i ve j bağ yapmamış iki atom ise, $a_{ij} = R_{ij}$ olur ve atomlar arası uzaklık parametre olarak kullanılır. Bu yolla her bir konformerin matrisi, biyoreseptörle etkileşimi göz önüne alındığında, incelenen molekülün konformasyonel özelliklerini tam olarak ifade edebilen, hem a_{ii} ve a_{ij} elektronik karakterini hem de R_{ij} geometrik karakterini içermektedir [91].

Bu çalışmada, matris hesaplamalarında txt dosyalarından hem elektrostatik hemde muliken yükleri kullanılarak matris oluşturulmuştur ve farmafokoron belirlenmesi ile buna bağlı olarak aktivite hesaplaması bu iki matris serisi (seride 221 tane konformer temsil eden matris bulunmaktadır) ayrı ayrı dikkate alınarak gerçekleştirilecektir. Konformerler değiştikçe matris değişmektedir. Matris incelendiğinde sadece diyagonal değerlerinin farklı olduğu görülür. Karbona bağlı hidrojen atomları reseptörle etkileşimde çok fazla etkiye sahip olmadığı için matrisde dikkate alınmamıştır [87-91].

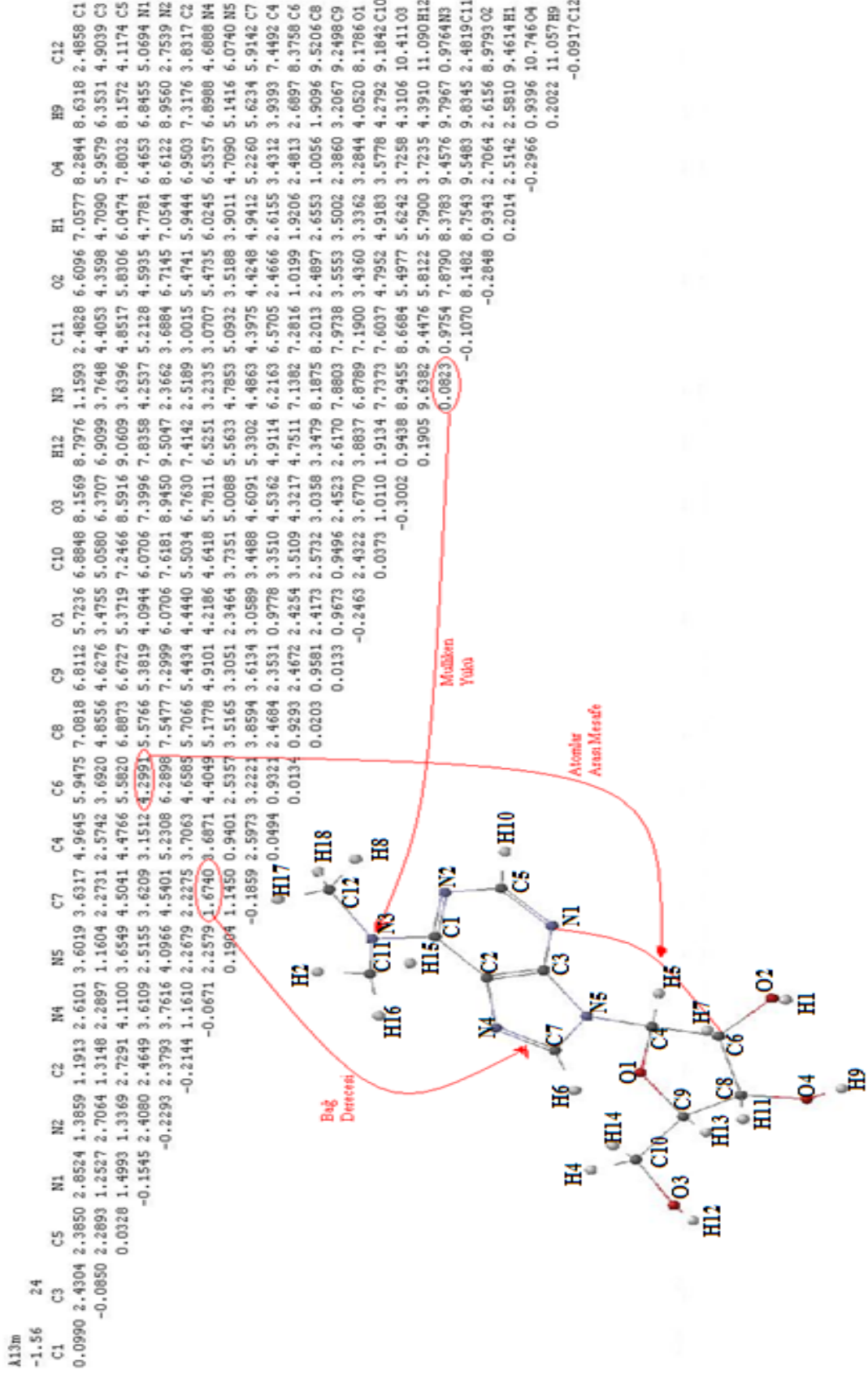
The screenshot shows the 'k1' software interface. The window title is 'k1'. The interface is divided into several sections. On the left, there are labels for various parameters: 'Tolerans', 'Yük', 'Mesafe', '*.mat Dosyası', 'Çıktı Dizini', 'Kontrol Bileşiği', 'Akt. Sınır Bileşiği', 'İlk değişken no', 'İyilik Sınırı', 'Alfa-Beta Sınırı', 'Üst Grup', '*.inf Dosyası', 'İlk komut', and 'Uygulama'. On the right, there are input fields for 'İlk', 'Son', 'Artış', and 'Gruplar'. At the bottom, there are four buttons: 'Başla', 'Analiz', 'Kaydet', and 'Çık'. There are also several checkboxes for file creation and calculation options.

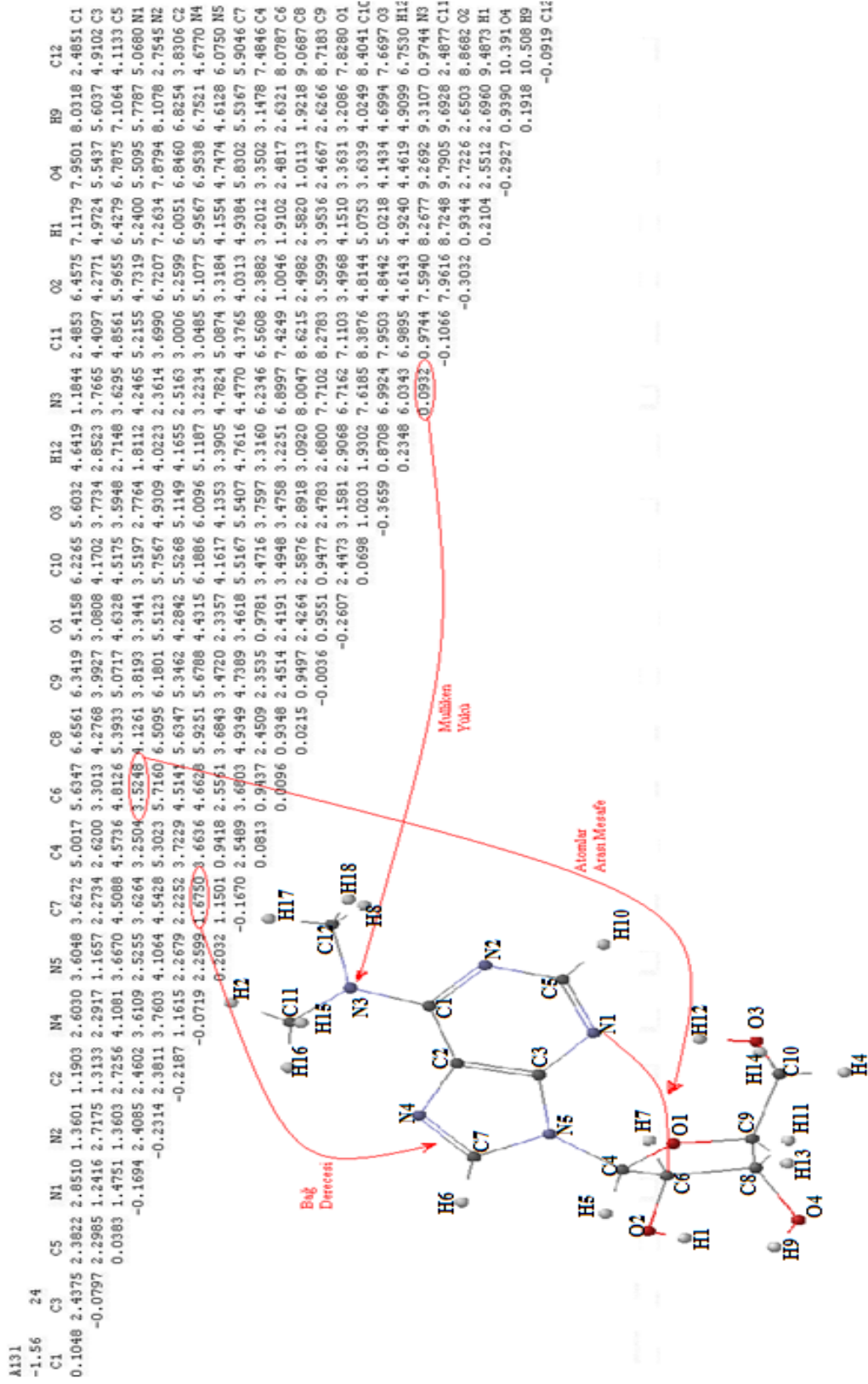
Şekil 4.3. Alt Matris Hesabının Ara Yüz Şekli





Şekil 4.5. A11b Bileşiğinin ETMC Matrisi





Şekil 4.7. En Pasif A131 Bileşiğinin ETMC Matrisi

Şekil 4.4 , Şekil 4.5 ile ; Şekil 4.6 , Şekil4.7 ile karşılaştırıldığında aynı bileşik olmasına rağmen konformerlerdeki farklılıktan dolayı matrislerinde farklı olduğu görülür. Bağ mesafeleri, bağ dereceleri ve yüklerindeki bu farklılıktan dolayı her birinin aktiviteye katkısı farklı olmaktadır. Bu matris değerleri, moleküllerin karşılaştırma ile aktif fragmentinin (farmakofor: aktiviteden sorumlu grup) bulunması için kullanılacaktır.

Hesaplamalar ile elde edilen sonuçların mevcut yeni yöntemlerle değerlendirilmesi ve hesaplamalar sonucu elde edilen kuantum kimyasal özelliklerin ve bilgisayarda elde edilen out dosyalarının ETM de hazırlanması için kuantum kimyasal hesaplamalar ile bileşiklerin konformasyonel analizlerini gerçekleştirerek matrix oluşturan programına ihtiyaç duyulmuştur ve bu program C# dilinde yazılmıştır Bu program, Spartan 03 programı ile elde edilen oldukça karışık out dosyalarının düzenli birer matris dosyası haline dönüştürür ve bu program kullanılarak 21 bileşiğin 221 konformerinin hepsi için matrisler oluşturulmuştur. Her bir konformerin txt dosyasının büyüklüğü 7.00 – 10.00 MB olup yaklaşık 3450-3500 sayfa olduğu düşünülürse tezde belirtilmesi olanaksızdır.

Adım 4' te ise; hazırlanan ETMC matrisleri kullanılarak atomik yükler ve atomlar arası mesafelerin karşılaştırılması ile ECSP V1.0 (Elektron Konformasyon Alt Matris Programı) adını verdiğimiz program ile farmokofor grubu temsil eden alt matris (ECSA elektron konformasyonel alt matris) belirlenmiştir.

İlaç tasarımı (Pha) terimi ana kavramlardan biri olup 1900 lerin başında Ehrlich tarafından ortaya çıkarılmış, serideki aktif moleküllerde ilaç aktivitesinden sorumlu belli bir geometrik düzende olan atomlar veya atom gruplarına farmakofor denir. Moleküller 3boyutlu olduğundan Pha terimi de üç boyutlu olarak açıklanmalıdır. Çünkü (3boyutlu) farmakofor, özellikle kimyasal özellik (fonksiyonel gruplar) ile uzaydaki düzenlenmelerin bir toplamı olarak tanımlanır [92]. Reseptörün üç boyutlu yapısı bilinmediği durumlarda farmakofor tanımlaması, yeni farmakolojik ilaçların tasarımı bir anahtardır ve oldukça önemlidir. Pha modelleri, reseptör yapıları deneysel olarak açıklanamadığı zaman veya açıklanması zor olduğunda reseptör-ligand etkileşimini açıklamada kimyacılar yardım eder . Farmakofor kavramı Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımında, (CADD- Computer-Assisted Drug Design), reseptör veya enzim ile etkileşen çeşitli moleküllerdeki genel üç boyutlu özelliklerin araştırılmasında kullanılır

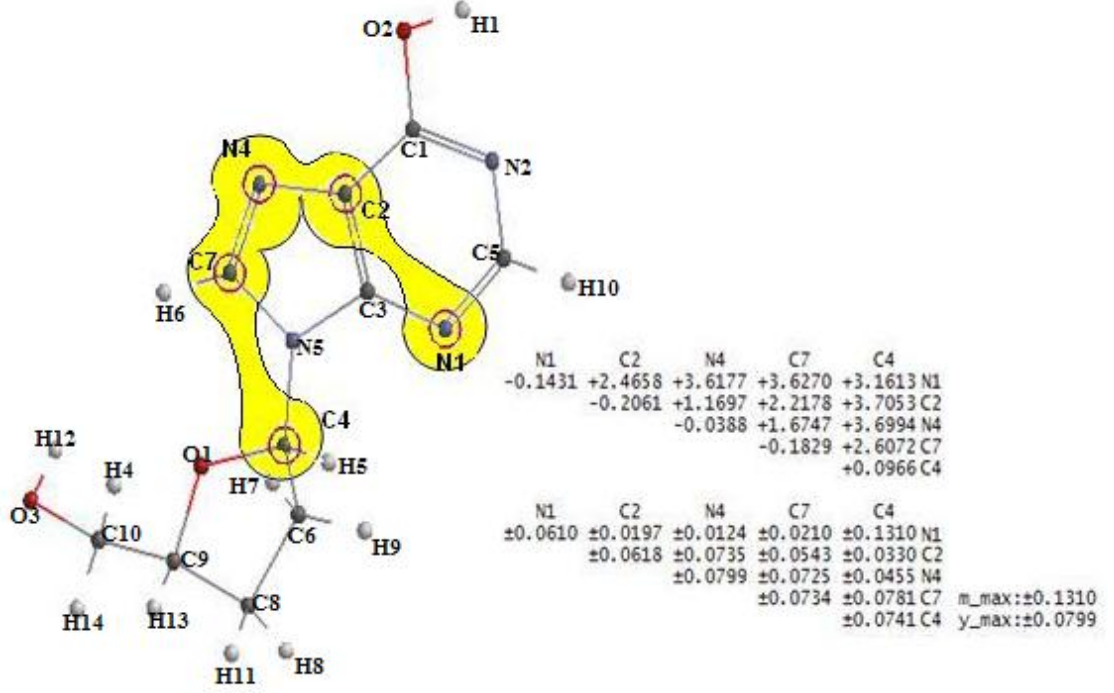
[93]. Pha çoğunlukla, biyolojik aktivite sağlamak zorunda olan bir bileşiğin, fizikokimyasal (logP, ovality, hacim, yüzey alanı vb. gibi) geometrik (uzaklık, açı, torsiyon açısı, atomların farmakofor düzlemine uzaklığı ve açısı vb. gibi) ve elektronik (HOMO, LUMO, yükler, kimyasal sertlik, dipol moment, elektronegatiflik vb gibi) özelliklerinin kombinasyonlarını kapsayan bir grup özelliği olarak ifade edilir [94-99].

Tablo 4.2. En Basit Bileşiğe Göre Diğer Bileşiklerin Fonsiyonel Grupları Ve Atomlarının Düzenlenmesi Yani Moleküllerde Birbirine Karşılık Gelen Atomlar.

A1	N5	C1	N1	C5	H9	N2	C3	C2	N4	C6	H3	N3	C4	H6	C7	H5	O2	C8	H10	O3	C9	O1	H12	C10	H8	H13	O4	H4
A2	O5	C1	N1	C5	H9	N2	C3	C2	N4	C6	H3	N3	C4	H6	C7	H5	O2	C8	H10	O3	C9	O1	H12	C10	H8	H13	O4	H4
A3	O1	C1	N1	C5	N4	N2	C3	C2	N5	C7	H9	N3	C4	H7	C6	H8	O3	C8	H13	O4	C9	O2	H15	C10	H1	H16	O5	H14
A4	N3	C1	N1	C5	H7	N2	C3	C2	N4	C7	H12	N5	C4	H4	C6	H6	O3	C8	H9	O4	C9	O2	H13	C10	H10	H14	O5	H8
A5	N3	C1	N2	C5	C11	N1	C3	C2	N4	C7	H11	N5	C4	H4	C6	H5	O2	C8	H9	O3	C9	O1	H13	C10	H10	H6	O4	H12
A6	O1	C1	N2	C5	N3	N1	C3	C2	N4	C7	H12	N5	C4	H4	C6	H6	H7	C8	H10	O3	C9	O2	H13	C10	H14	H2	O4	H11
A7	O1	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N3	C7	H5	N4	C4	H4	C6	H6	H7	C8	H9	O3	C9	O2	H12	C10	H3	H11	O4	H8
A8	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H6	N5	C4	H5	C6	H7	H8	C8	H11	O2	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A9	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H6	N5	C4	H5	C6	H7	O4	C8	H11	H8	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A10	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H6	N5	C4	H5	C6	H7	H9	C8	H11	H8	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A11	O2	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H6	N5	C4	H5	C6	H7	H9	C8	H11	H8	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A12	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H6	N5	C4	H5	C6	H7	O2	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A13	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H6	N5	C4	H5	C6	H7	O2	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A14	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	C13	C7	H6	N5	C4	H5	C6	H7	O2	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A15	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	Br1	N5	C4	H5	C6	H7	O2	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H12
A16	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H2	N5	C4	H5	C6	H7	O2	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	H3	-
A17	N3	C1	N2	C5	H10	N1	C3	C2	N4	C7	H2	N5	C4	H5	C6	O2	H6	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H7
A18	N3	C1	N2	C5	C11	N1	C3	C2	N4	C7	H2	N5	C4	H5	C6	H3	H6	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H7
A19	N3	C1	N2	C5	F1	N1	C3	C2	N4	C7	H2	N5	C4	H5	C6	O2	H6	C8	H11	O4	C9	O1	H13	C10	H4	H14	O3	H7
A20	O1	C1	N1	C5	H7	N2	C3	C2	N4	C7	H12	N5	C4	H4	C6	H6	O3	C8	H9	O4	C9	O2	H13	C10	H10	H14	O5	H8
A21	O1	C1	N1	C5	H7	N2	C3	C2	N4	C7	H12	N5	C4	H4	C6	O3	H3	C8	H9	O4	C9	O2	H13	C10	H10	H14	O5	H8

Farmakofor grubu temsil eden ECSA matrisi Şekil 4.8 de gösterilmiş olup belirlenen bu atomlar temel iskelet üzerinde de işaretlenmiştir. C7, N4, N1, C4 ve C2 atomları farmakofor grup olarak belirlenmiş ve matriste yer alan yük, bağ derecesi ve mesafeler Şekil 4.4, Şekil 4.5 de gösterilmiştir. ECSA matrisinin belirlenmesi için ECSP V1.0 adlı programda mulliken yükleri, bağ dereceleri ve mesafeler için tolerans değerleri girilerek ve bu değerler 0.01 oranında artırılarak, ETMC matrisleri en aktif bileşiğe göre karşılaştırılmış, sonuç olarak en uygun olan ECSA seçilmiştir. Belirlenen ECSA

matrisinde atom yükler, atomlar arası uzaklıklar ve bağ dereceleri ile tolerans değerleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.



Şekil 4.8. Adenosin Türevleri İçin Aktif Fragmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris) Ve Farmakofor Grubu Temsil Eden Atomlar

Adım 5' te ise; seçilen bileşik serisinde aktivite hesaplamalarına geçildi. Pha' nın varlığı aktivite için gereklidir fakat yeterli şart değildir. Bu nedenle alt matrisin belirlenmesinden sonra moleküllerde aktiviteye etki eden gruplar, serideki bileşiklerin temel iskeletine bağlı olan substituentlerin etkisine göre araştırılması için aşağıdaki aktivite formülü kullanıldı. Bunun için hem sterik engelleri hem de aktiviteyi azaltan (APS) veya aktiviteyi artıran (AG) grupları ortaya çıkarmak için APS ve AG değerlerini kantitatif olarak karakterize eden ve S ile gösterilen bir parametre dikkate alınmıştır. Bileşikler ile biyoalıcılar arasındaki etkileşim diğer moleküller arası etkileşim ile benzediğinden dolayı aktivite (A) eksponansiyel olarak S ye bağlıdır. Yani AG ve APS

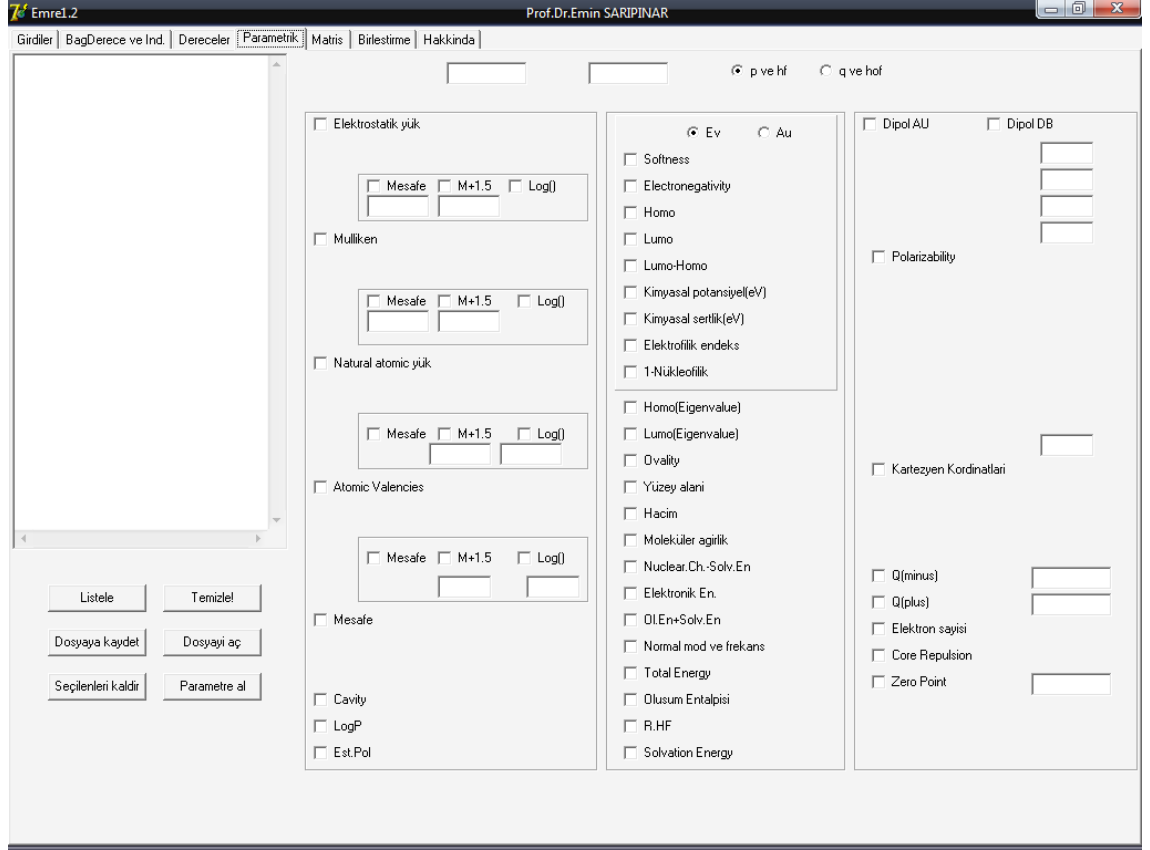
gruplarının etkisini hesaba katmak için aktiviteyi artıran yada azaltan S fonksiyonunu kullanılmıştır.

$$A \sim e^{-S}$$

Molekül-biyoalıcı etkileşiminde AG ve APS grupları $\exp(-E_n/kT)$ nin bir faktörü olarak E' (oluşum enerjisi) miktarı kadar aktiviteyi artırır ya da azaltırlar. Pha grubuna sahip herhangi bir bileşiğin konformeri p ile gösterilirse enerjisi E_{np} olur. Bileşiğin en düşük enerjili konformeri $E_{n0}=0$ olarak gösterilir. Pha grubuna sahip birçok konformer varsa p konformeri, biyoalıcıya en iyi bağlananlardan biridir ve genellikle en düşük E_{np} değerindedir. Reseptöre bağlandıktan sonra bağ yapmış durumdaki bu konformerin enerjisi $E_{np}+E'_{np}-\Delta$ olur. Burada E'_{np} APS ve AG grupların katkısı ve Δ molekül-biyoalıcı bağlanma enerjisidir (Bkz. Şekil 3.1.). Bağlanmadan sonra 300 K de E_0 (en düşük enerjili konformer) yerine $-\Delta + E_{np}+E'_{np}$ eşitliği kullanılır ve dengede bağlanma enerjisi $E_{ni} - [\Delta-(E_{np}+E'_{np})]$ olup S ifadesinde yerine yazıldığında $S_{np}=E'_{np}/kT$ şeklinde gösterilir. Genel olarak S fonksiyonu aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir.

$$S_{ni} = \sum_{j=1}^N \kappa_j a_{ni}^{(j)} \quad (4.1)$$

Burada $a_{ni}^{(j)}$, n'inci bileşiğin i'inci konformerindeki APS veya AG nin j'inci tür özelliğini temsil eden torsiyon açısı, elektrostatik veya muliken yükleri, dik uzaklık, HOMO, LUMO, kimyasal potansiyel, oluşum entalpisi, solvasyon, logP, hardness, negativity, ovality, elektrofilik indeks ve atomlar arası uzaklık gibi özellikler ile tanımlanmış bir parametredir. Bu parametreler molekülün özelliklerini tanımlayan ve QSAR çalışmalarında yaygın olarak kullanılan değişkenlerdir [99]. N seçilen parametrelerin sayısı ve κ_j (kappa) toplu analiz sonucundan hesaplanan değişken bir katsayıdır. κ_j değerleri birimsiz ifadedir. κ_j katsayısının mutlak değerinin büyüklüğü, aktivite üzerindeki etkiyi gösterir ve APS ve AG gruplarını üç boyutlu yapı içinde tanımlamak için Pha'dan sonra ikinci derecede öneme sahiptir.



Şekil 4.9. EMRE V 1.2 ‘ nin Parametrik Sekmesinin Kullanıcı Arayüzü.

$a_{ni}^{(i)}$ parametresinin seçimi önemlidir. Çünkü aktiviteye etki eden grup özelliklerinin elde edilmesini sağlar. Serideki 21 bileşik için 110 farklı $a_{ni}^{(i)}$ değişkeni belirlendikten sonra, txt. dosyalarından aktivite hesaplama formülündeki formata uygun hale getirilebilmesi için, Delphi 7.0 programlama dili kullanılarak yazılan ve şuan geliştirilmeye çalışılan yeni bir program kodu ile (EMRE V1.2) aktivite üzerinde etkisi olduğu tahmin edilen ve QSAR çalışmalarında kullanılan bu değişkenler uygun formatta hazırlandı. 21 bileşiğin toplam 221 konformerinin her biri için oluşturulması gereken 110 adet değişkenin, yaklaşık 3400-3500 sayfalık çıktılar halinde bulunan txt. dosyalarından yerlerinin tespit edilip istenilen formatta elle yazılması haftalar hatta aylar alabildiğinden dolayı yeni bir program geliştirilmiştir. Ayrıca bu programda .txt dosyalarında çıktı olarak bulunmayan ve aktivite hesaplamalarında çok büyük önem taşıyan torsiyon açısı, farmakofor olarak belirlenen düzleme diğer atomların dik uzaklığının hesaplanması ve en uzak atomların farmakofor düzlemine olan dik uzaklığının logaritması ile bu uzaklığa Hidrojen atomunun van der waals yarıçapı olan

1.5Å mesafesinin toplamı da matematiksel olarak ifade edilen bunun gibi değişkenlerin hesaplanması ve bulunması da EMRE V1.2 programında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu programda son olarak düzlem ile seçilen iki atom arasındaki açıyı ölçmek için kullanılan bir ifade geliştirilmiştir.

Adım 6 da ise; serideki 21 bileşik ve konformerleri için belirlenen bu değişkenler hazırlandıktan sonra Matlab 7.0 paket programında yazılan ve genetik algoritma (GA) optimizasyon tekniği kullanarak çalışan yeni bir kod ile aşağıda belirtilen formüle göre aktivite hesaplamaları yapıldı.

$$A_n = A_l \frac{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT} \sum_{i=1}^n \delta_{ni} [Pha] e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT} \sum_{i=1}^{m_l} \delta_{li} [Pha] e^{-S_{li}} e^{-E_{li}/kT}} \quad (4.2)$$

Burada A_l referans bileşiğin deneysel aktivitesi, E_l referans bileşiğinin oluşum entalpisi, A_n aktivitesi hesaplanacak bileşiğin aktivitesi, E_n aktivitesi hesaplanacak bileşiğin oluşum entalpisi, m_l referans bileşiğin konformer sayısı, m_n aktivitesi bulunacak bileşiğin konformer sayısı, k Boltzman sabiti (burada gaz fazında hesaplamalar yapıldığı için bir mol bileşik için kcal/mol cinsinden R , gaz sabiti olarak alınmaktadır.), T ise kelvin cinsinden sıcaklığı ifade etmektedir.

Burada görülen bu iki denklemde tanımlanan $a_{ni}^{(j)}$ parametresine bağlı olarak hesaplanması gereken çok sayıda k_j değeri ortaya çıkmakta, bileşik sayısına ve hesaplanması gereken k_j değerine bağlı olarak bilinmeyen sayısı ile denklem sayısı eşit olmamakla birlikte bazı durumlarda denklemler bilinen çoğu matematiksel kurallar ile çözülememekte ve çalışmanın en zor kısmını k_j değerlerinin hesaplanması oluşturmaktadır. Bu nedenle oluşan bu karmaşık denklem sistemlerinin çözülebilmesi için Matlab 7.0 paket programında yeni bir kod yazıldı ve ancak genetik algoritma optimizasyon tekniği kullanılarak aktivite ve k_j hesaplamaları gerçekleştirildi.

Aktivite ve k_j sabitlerinin hesaplamasında kullanılan genetik algoritma mantığının çalışma prensibi ise aşağıdaki sistem üzerine kurulmuştur.

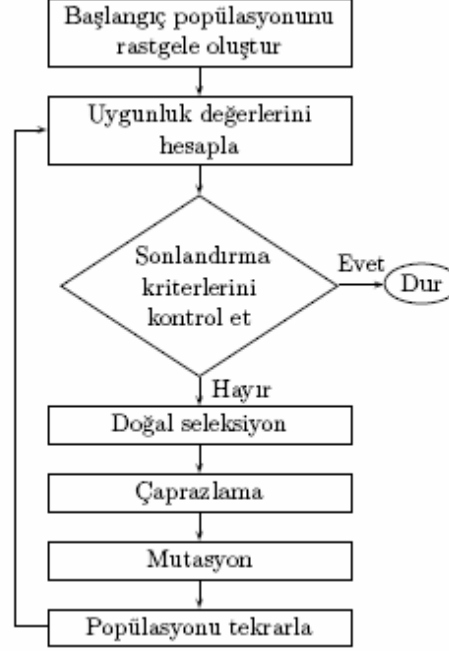
Genetik algoritmalar yapay zekanın gittikçe genişleyen bir kolu olan evrimsel hesaplama tekniğinin bir parçasını oluşturmaktadır. Adından da anlaşıldığı üzere, evrimsel hesaplama tekniğinin bir parçası olan genetik algoritma Darwin'in evrim teorisinden esinlenerek oluşturulmuştur. Herhangi bir problemin genetik algoritma ile çözümü, problemi sanal olarak evrimden geçirmek suretiyle yapılmaktadır.

Evrimsel hesaplama ilk olarak 1960'larda I.Rechenberg tarafından "Evrimsel Stratejileri (Evolutions strategie)" isimli eserinde tanıtılmıştır. Onun fikri daha sonra başka araştırmacıların da ilgisini çekmiş ve geliştirilmiştir. John Holland evrim sürecinin bir bilgisayar yardımıyla kullanılarak, bilgisayara anlayamadığı çözüm yöntemlerinin öğretilebileceğini düşündü. Genetik Algoritma (GA) böylece John Holland tarafından bu düşüncenin bir sonucu olarak bulundu. Onun öğrencileri ve arkadaşları tarafından geliştirildi ve bu sayede Holland'ın kitabı "Doğal ve Yapay Sistemlerde Adaptasyon (Adaption in Natural and Artificial Systems)" 1975 yılında yayınlandı. 1992 yılında John Koza genetik algoritmayı kullanarak çeşitli görevleri yerine getiren programlar geliştirdi. Bu metoda Genetik Programlama adını verdi.

Genetik algoritma geleneksel yöntemlerle çözümü zor veya imkansız olan problemlerin çözümünde kullanılmaktadır [100]. GA tekniği, çözüm uzayının büyüklüğüne rağmen iyi bir çözüme kısa zamanda yakınsamaktadır. Genetik algoritma raslantısal arama tekniklerini kullanarak çözüm bulmaya çalışan, parametre kodlama esasına dayanan sezgisel bir arama tekniğidir. Genetik algoritmalar doğadaki canlıların geçirdiği süreci örnek alır ve iyi nesillerin kendi yaşamlarını muhafaza edip kötü nesillerin yok olması prensibine dayanır. Matematiksel modellemenin yapılamadığı veya kesin çözümün olmadığı problemlerde genetik algoritmadan yararlanılır [101]. Genetik algoritma , seçim, çaprazlama ve mutasyon olmak üzere üç temel işlemten (operatörden) meydana gelmektedir [102].

Genetik algoritmanın önemli özelliklerinden biride bir grup üzerinde çözüm araması ve bu sayede çok sayıda çözümün içinden en iyiyi seçmesidir. Genetik algoritma tek bir alana bağımlı kalarak çözüm aramaz, yığının tamamında çözüm arar. Genetik algoritmanın uygulanmasında kullanılan operatörler raslantısal yöntemler dayanır ve kesin yöntemler kullanmaz [101].

Genetik algoritma aşamaları:



Şekil 4.10. Genetik Algoritmanın Akış Şeması.

1. Başlangıç popülasyonunu rastgele oluştur.
2. Popülasyondaki her bir bireyin uygunluk değerini hesapla.
3. Optimizasyonu/işleyişi sonlandırma kriterlerini kontrol et, eğer sağlanıyor ise bitir, aksi taktirde;
 - Doğal seleksiyon işlemini uygula
 - Çaprazlama işlemini uygula
 - Mutasyon işlemini uygula
 - Eğer var ise kullanıcı tarafından yazılan operasyonları uygula
4. Tekrar popülasyonu üret ve 2. adıma git.

Algoritma ilk olarak populasyon diye tabir edilen bir çözüm (kromozomlarla ifade edilir) seti ile başlatılır. Bir popülasyondan alınan sonuçlar bir öncekinden daha iyi olacağı beklenen yeni bir popülasyon oluşturmak için kullanılır. Yeni popülasyon oluşturulması için seçilen çözümler uyumluluklarına göre seçilir. Çünkü uyumlu olanların daha iyi sonuçlar üretmesi olasıdır. Bu istenen çözüm sağlanıncaya kadar devam ettirilir.

Görüldüğü üzere genetik algoritmanın yapısı oldukça geneldir ve herhangi bir probleme uygulanabilir. Kromozomların tanımlanması genellikle ikili düzendeki sayılarla yapılır. Çaprazlama işlemi için kullanılan bireyler iyi bireylerden seçilir [100].

Başlangıçta sürekli olmayan (nonlinear) en iyileme problemlerine uygulanan genetik algoritma, sonraları karmaşık problemler de başarıyla uygulanmıştır. Son yıllarda üretim, planlama tasarım, elektronik ve finansman gibi farklı ve çok geniş sahaları kapsayan konuların alt birimlerinde yapılan gerek teorik gerekse uygulamalı genetik algoritma çalışmalarının sayısı artmaktadır [101].

4.2 Sayısal Optimizasyon

İnsanların yaşamları boyunca karşılaştıkları sorunları çözüm arayışları zamanla bu çözümleri modeller üzerinde arama yaklaşımını doğurmuştur. Matematik ve bilgisayardaki gelişmeleri dış dünyanın problemlerini matematiksel olarak modelleyip çözerek bu çözümleri gerçek hayata yansıtma olanağı vermiştir.

Matematiksel modelleme tekniği öncelikle doğrusal ve az sayıda değişkenlerin kullanılmasıyla başlamıştır. Bir süre sonra doğrusallık varsayımını her problem için geçerli olmadığı anlaşılmıştır. Bu durumda doğrusal olmayan modellemeye gidilmiştir. Ancak doğrusal olmayan modellerin kendine özgü çözümleri uygulamada birçok sorunu beraberinde getirmiştir. Zamanla geliştirilen bazı yöntemlerle doğrusal olmayan modellerin hızla çözümlenmesi sağlanmış ve bu optimizasyon teorisini geliştirmiştir.

Optimizasyon, reel bir fonksiyonu maksimize veya minimize etme probleminin çözümünü, çözüm için izin verilen bir küme dahilindeki reel veya tamsayı değerlerini sistematik bir şekilde kullanarak arama işlemidir. Optimizasyon "En İyileme" anlamına gelir ve her zaman için hedeflenen bir sonuçtur. Bir işin yapılmış olması demek, o işin en iyi şekilde yapıldığı anlamına gelmez. Örneğin yaklaşık 200 değişkenli bir kümede sekiz parametre bulunan pc lerle en iyi çözüm için ortalama 20 yıl gerekmektedir. Optimizasyon teknikleri, yapılmış veya yapılmakta olan işin en iyi çözümünü ortaya koymak için kullanılır. Bu teknikler kullanılarak ortaya konulmuş olan çözüm, Optimum Çözüm olarak adlandırılır. Hedef her zaman için bu optimum çözümü yakalayabilmektir.

Kök arama ve optimizasyon bir bakıma birbirine benzerler. Kök arama, fonksiyonların sıfır olduğu noktaların aranması işlemidir. Optimizasyon hesaplamalarında ise minimum ve maksimum noktaların aranması söz konusudur. Türevin sıfır olduğu noktayı bulma işlemi kök bulma gibi yorumlanır ise kök bulma yöntemlerinin optimizasyon yöntemleri olarak da kullanılabileceği düşünülebilir.

Optimizasyon modelleri yukarıda belirtildiği gibi matematiksel teknikler kullanılmaktadır. Daha özel anlamda, optimizasyon modelleme geleneksel olarak *matematik programlama* olarak adlandırılmaktadır. Diğer bir ifadeyle, matematik programlama, optimizasyon modelinin kurulması ve çözümün elde edilmesi işlemine

verilen genel isimdir. Geçmişten gelen bir gelenekle günümüzde de "matematik programlama" ve "optimizasyon" kavramları eşanlamlı olarak kullanılmaktadır[103].

Aktivite ve k_j sabitlerinin hesaplamasında kullanılan genetik algoritma mantığının çalışma prensibi ise aşağıdaki sistem üzerine kurulmuştur.

MATLAB ortamında, optimimizasyon problemlerinde kullanılacak metotlar üç başlık altında toplanmıştır.

- **L** => Büyük ölçekli optimizasyon metotları
- **M** => Orta ölçekli optimizasyon metotları
- **B** => Hem büyük hem orta ölçekli optimizasyon metotları

Optimizasyon tipleri, bunların matematiksel modelleri ve bu modelleri çözmek için kullanılan MATLAB komutlar verilmiştir [103]. Biz hesaplamalarımızda **fmincon** konudunu kullanmaktayız.

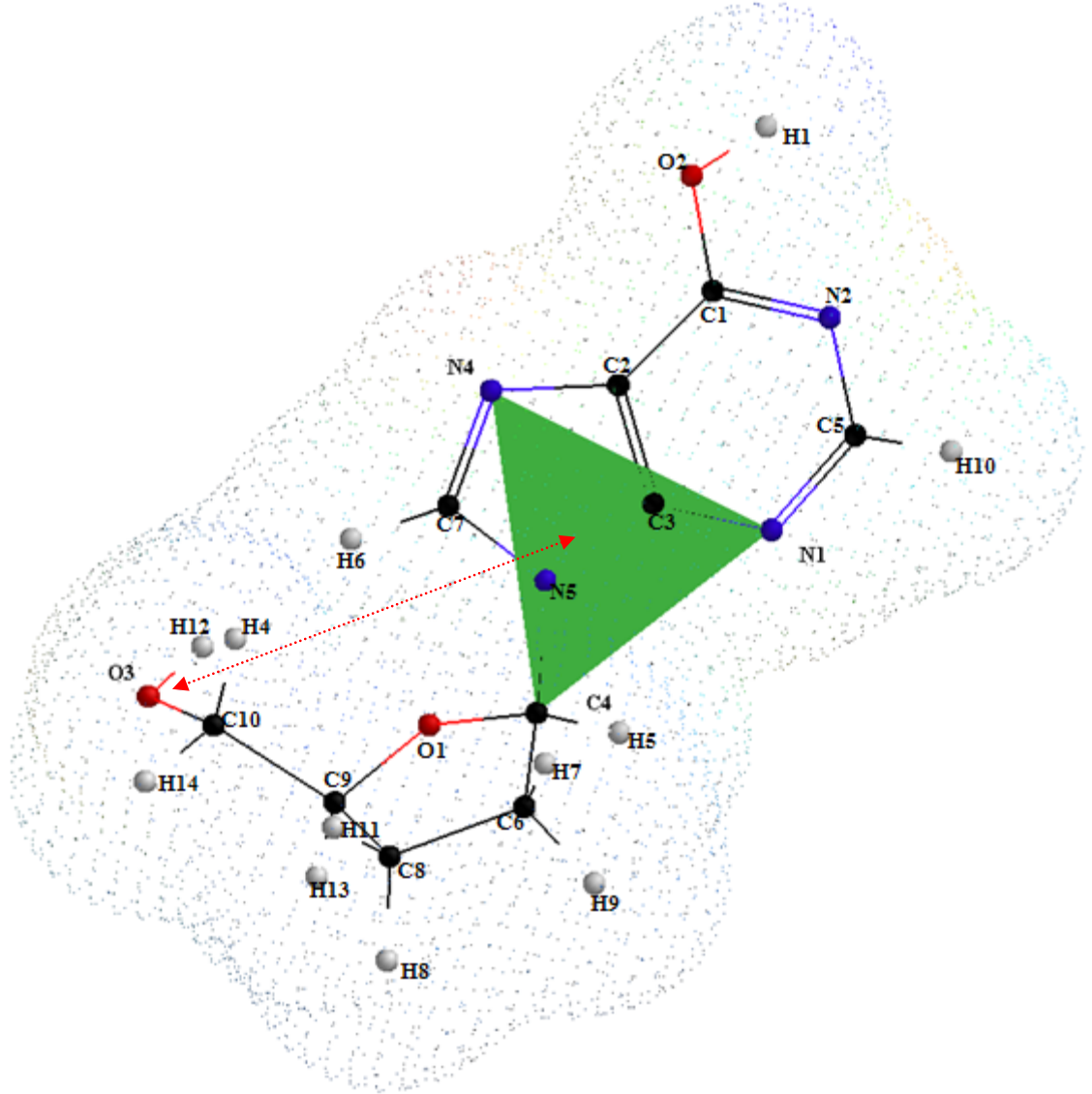
4.3. Aktivite Hesaplamasında Kullanılan Parametreler

Adım 5 te ise; seçilen bileşik serisinde aktivite hesaplamalarına geçilmiştir. Bunun için aktiviteye etki ettiği düşünülen 110 adet parametre belirlenerek EMRE 1.2 programında aktivite formülünde (Eşitlik 4.2) kullanılabilmesi için serideki 21 bileşik için uygun formatta hazırlanmıştır. Bu parametreler aktivitesi en yüksek olan A11 bileşiğine göre Tablo 4.3 de verilmiştir. 21 bileşiğin toplam 221 konformerinden, bileşik ve konformer sayısı arttıkça üstel olarak parametre sayısı da artacağından, toplam 24310 adet parametre hazırlanmıştır.

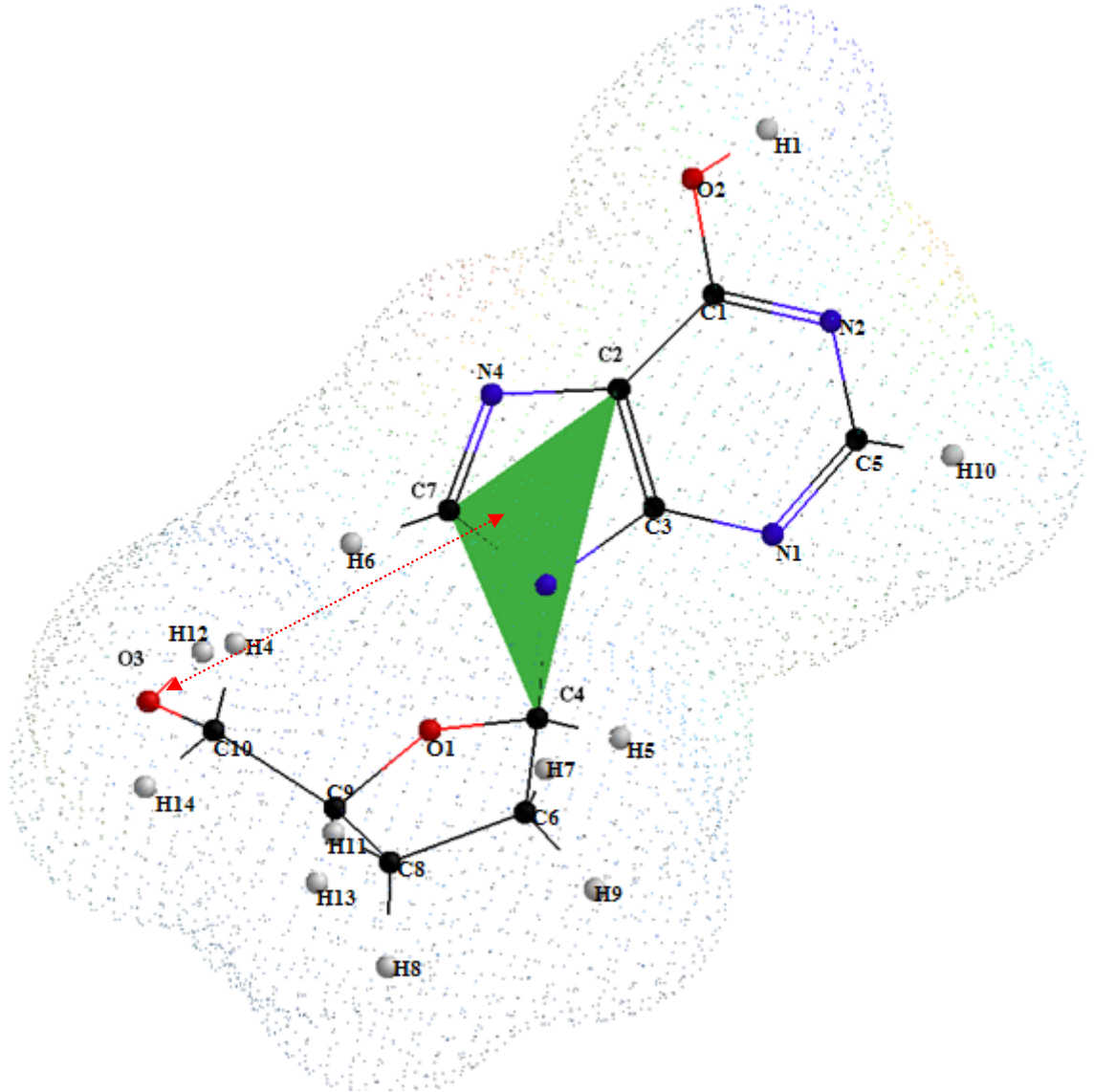
Tablo 4.3. Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

Özellik no	Mulliken Yük	Değer	Özellik no	Değer
1	O2	-0.1905	63	Solvatasyon Enerjisi
2	C1	0.2491	64	Dipol X(debye)
3	N2	-0.2637	65	Dipol Y(debye)
4	C5	0.0368	66	Dipol Z(debye)
5	H10	0.1337	67	Dipol Toplam(debye)
6	N1	-0.1431	68	PolarizebiliteXX
7	C2	-0.2061	69	PolarizebiliteYY
8	N4	-0.0389	70	PolarizebiliteZZ
9	C7	-0.1829	71	PolarizebiliteXY
10	H6	0.1709	72	PolarizebiliteXZ
11	N5	0.1879		
12	C4	0.0966	73	PolarizebiliteYZ
13	O1	-0.2640	74	Avaraj
14	C8	-0.1215	75	Q(minus)
15	H8	0.0699	76	Q(plus)
16	R ₄	0.1292	77	Elektron Sayısı
17	C6	-0.1343		
18	H9	0.0749		Açılar(Derece)
19	R ₅	0.0125	78	O2-C1-N2
20	H7	0.0777	79	C1-C2-N4
21	O3	-0.3001	80	C3-N5-C4
22	H12	0.1952	81	N5-C6-H9
	Mesafeler (Å)		82	O1-C8-H8
23	C1-O2	1.3419		
24	C1-N2	1.3583	83	O3-O1-N5
25	C2-H10	3.8388	84	O1-C3-H10
26	C7-H6	1.1004		
27	C7-O1	2.9896		Torsiyon Açısı(Derece)
28	N4-O1	4.1983	85	O2-C2-N5-C4
29	H9-N5	3.3264	86	H9-C6-O1-C7
30	H8-N1	6.2445	87	H8-C8-N5-N1
31	O3-O2	8.3823	88	C9-O1-N5-N4
32	O3-C2	6.3151		Dik Uzaklık(Düzlem C4-N4-N1)
33	H9-H6	4.4788	89	O2
	Mesafe+1.5 (Å)		90	H10
34	C1-O2	0.4536	91	H6
35	C1-N2	0.4561	92	H9
36	C2-H10	0.7274	93	H8
37	C7-H6	0.4150	94	O3
38	C7-O1	0.6522		Dik Uzaklık(Düzlem C7-C2-C4)
39	N4-O1	0.7557	95	O2
40	H9-N5	0.6836	96	H10
41	H8-N1	0.8890	97	H6
42	O3-O2	0.9948	98	H9
43	O3-C2	0.8929	99	H8
44	H9-H6	0.7766	100	O3
	Diğer Özellikler			Düzlemle Açık(Düzlem C4-N4-N1)
45	LogP	-0.5500	101	H9-C6
46	Softness	0.2297	102	H8-C8
47	Elektronegativite	4.8981	103	C9-O1
48	Homo	-9.4206	104	C10-O3
49	Lumo	-0.5358	105	O2-C1
50	Lumo-Homo	8.8848		Düzlemle Açık(Düzlem C7-C2-C4)
51	Kimyasal Potansiyel(eV)	-4.9782	106	H9-C6
52	Kimyasal Sertlik(eV)	4.4424	107	H8-C8
53	Elektrofilik Endeks	2.7893	108	C9-O1
54	1-Nükleofilik	0.3585	109	C10-O3
55	Homo(E)	-0.3462	110	O2-C1
56	Lumo(E)	-0.0197		
57	Ovality	1.4900		Oluşum Entalpisi
58	Yüzey Alanı	245.400		-77.1540
59	Hacim	198.900		
60	Moleküler Ağırlık	236.2300		
61	Oluşum Ener. Ve Solvatasyon Ener.	-93.9140		
62	Normal Mod ve Frekans	17.1600		

Şekil 4.11 a ve b' de en aktif olan A11 bileşiğinde farmakofor atomların oluşturduğu C4-N4-N1 düzlemi ve C7-C2-C4 düzlemine en uzak olan O3 atomunun uzaklığı verilmiştir.

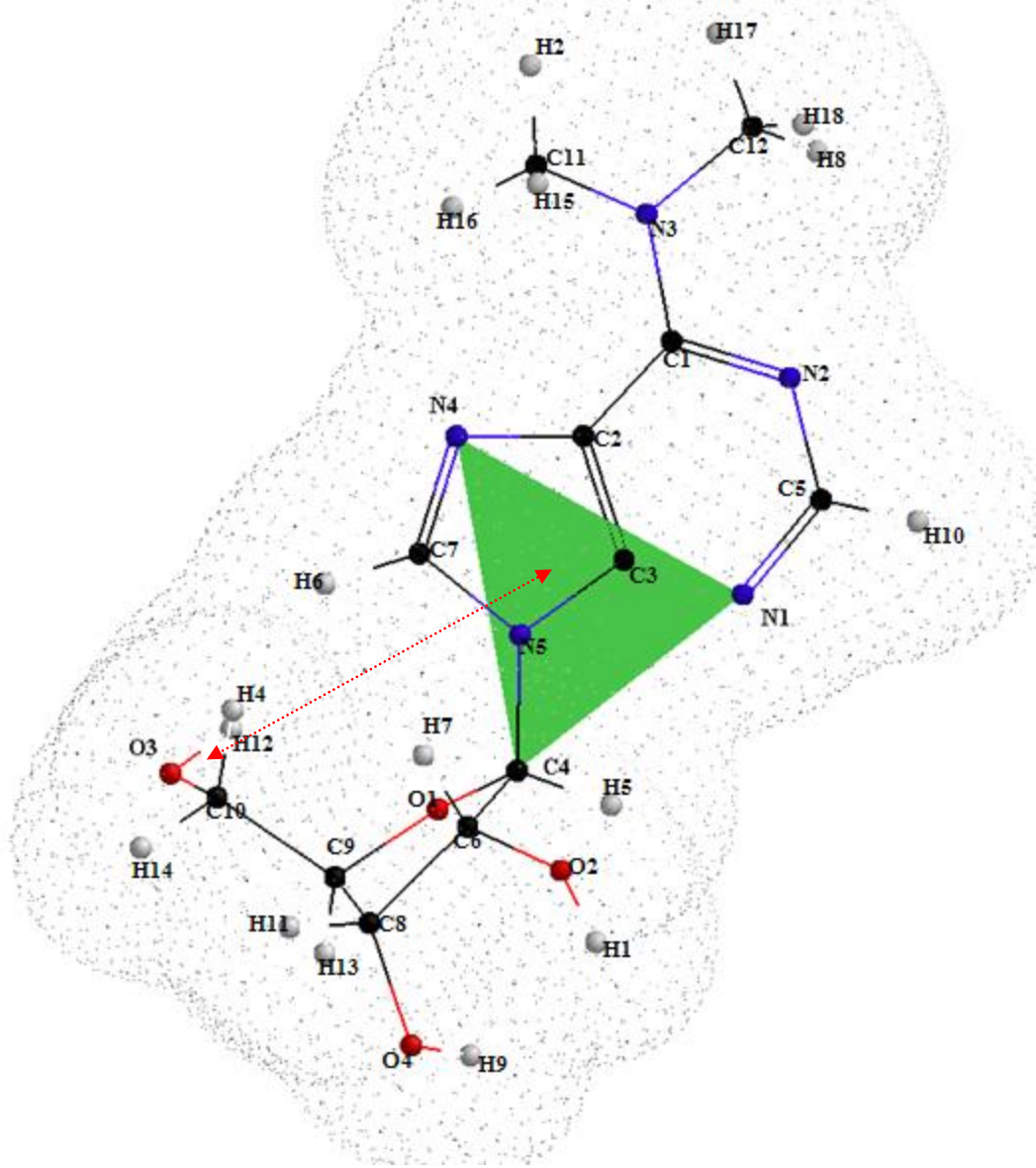


Şekil 4.12. a. A11 Bileşiğinde O3 atomunun C4-N4-N1 Düzlemine Uzaklığı

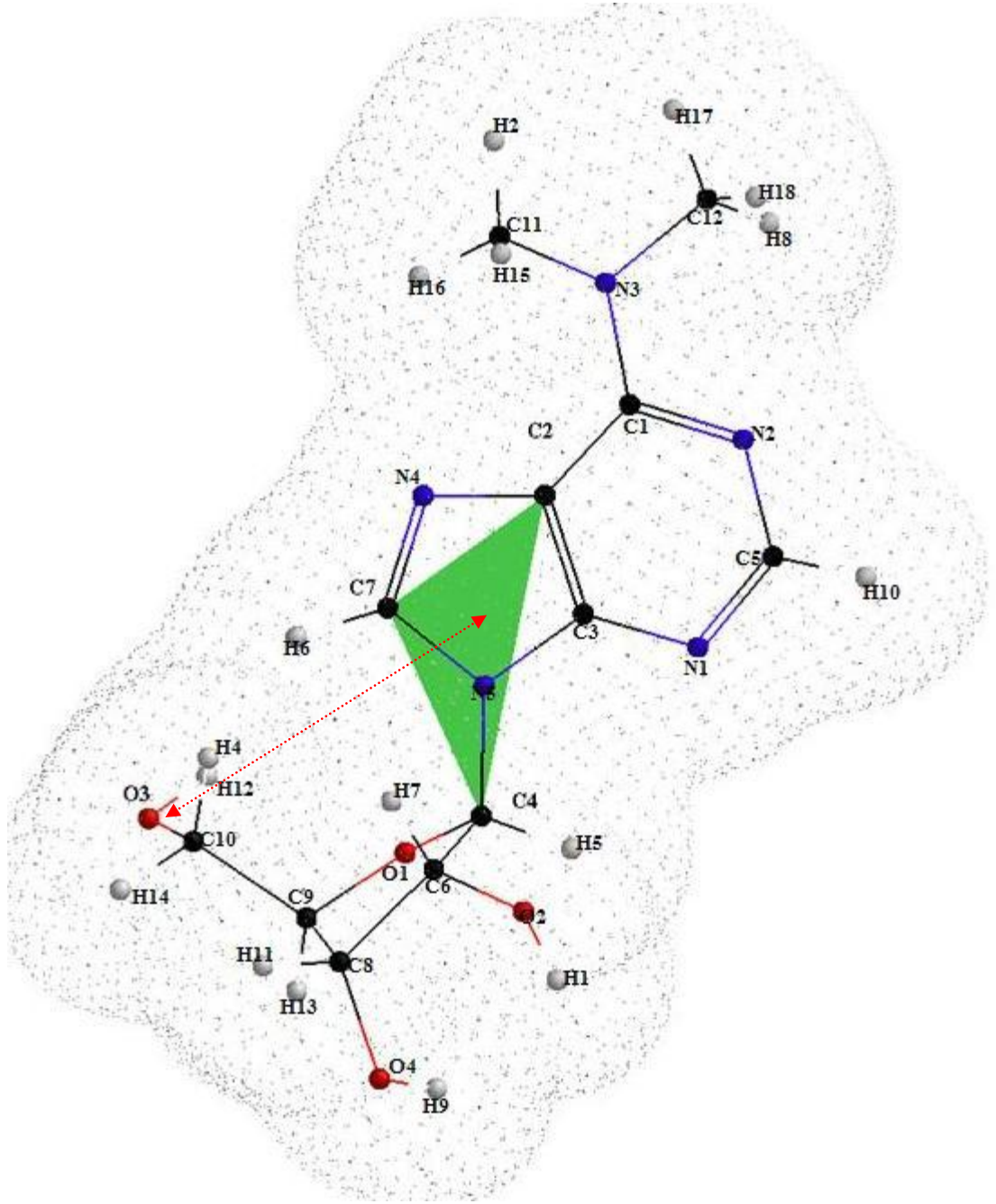


Şekil 4.12. b. A11 Bileşiğinde O3 Atomunun C4-C7-C2 Düzlemine Uzaklığı

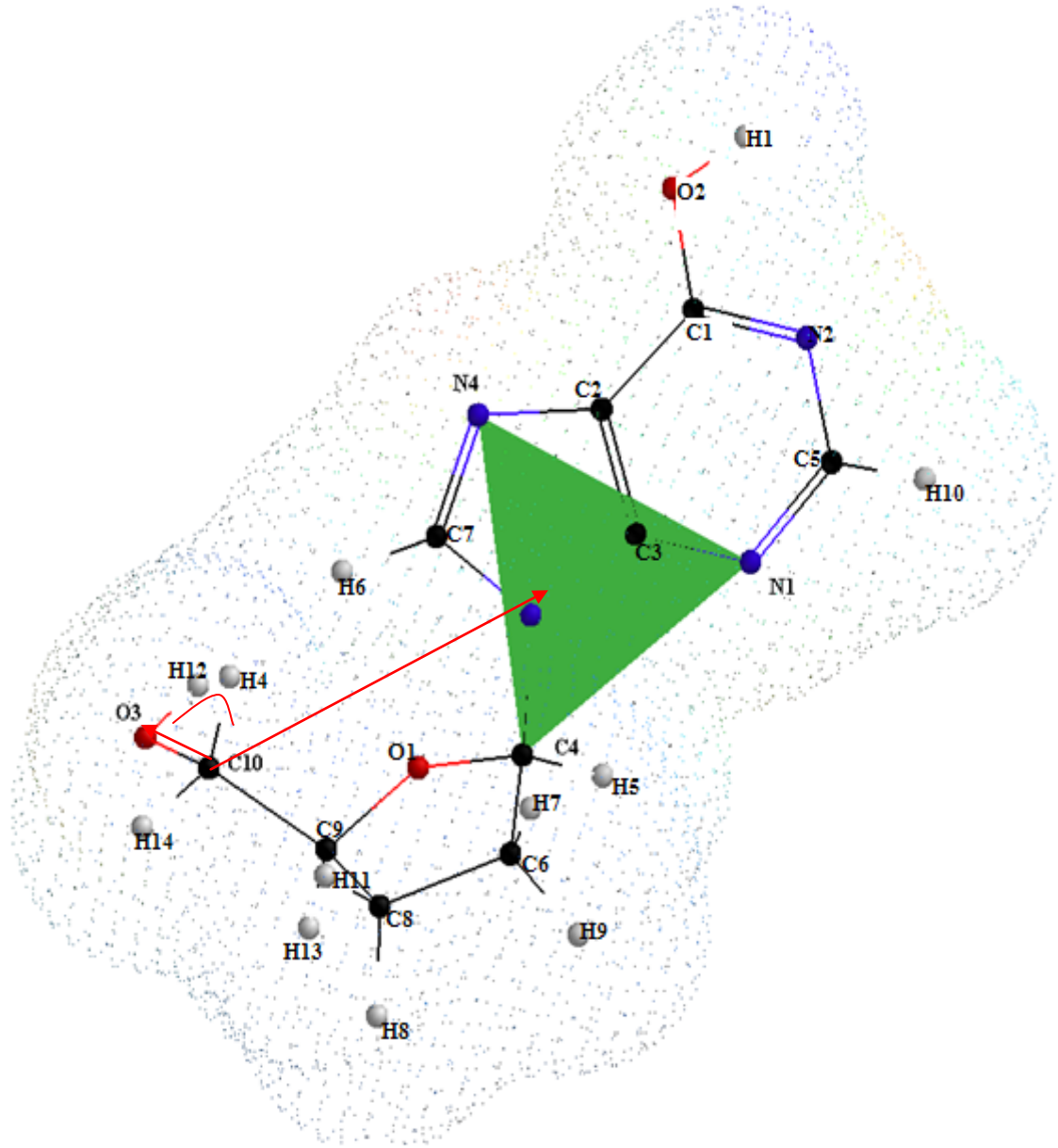
Şekil 4.12 a ve b ' de ise aktivitesi en düşük olan A13 bileşiğinde O3 atomunun C4-N4-N1 ve C4-C7-C2 düzlemlerine olan uzaklıkları verilmiştir.



Şekil 4.13. a. A13 Bileşiğinde O3 Atomunun C4-N4-N1 Düzlemine Uzaklığı



Şekil 4.13. b. A13 Bileşiğinde O3 Atomunun C4-C7-C2 Düzlemine Uzaklığı



Şekil 4.14. A11Bileşiğinde O3-C10 Atomları ve C4-N4-N1 Düzlemi Arasındaki Açı

4.3.1. Moleküler Parametreler

Bu çalışmada kullanılan elektronik, geometrik ve fizikokimyasal parametreler kısaca açıklanmıştır.

HOMO (highest occupied molecular orbital) bir moleküldeki en yüksek enerjili dolu orbital.

LUMO (unoccupied molecular orbital) ise bir moleküldeki en düşük enerjili boş orbital.

ϵ_{HOMO} ve ϵ_{LUMO} şeklinde gösterilir.

Hardness: Hardness (η) moleküllerin dayanıklılığıdır ve lomo ile homo enerjileri arasındaki farkın yarısına eşittir. Sonuçlar au (atomic unite) cinsinden elde edilir. Şu şekilde gösterilir.

$$\eta \approx \frac{1}{2}(I - A) \approx \frac{1}{2}(\epsilon_{\text{LUMO}} - \epsilon_{\text{HOMO}})$$

$$I \approx -\epsilon_{\text{HOMO}} \quad \text{ve} \quad A \approx -\epsilon_{\text{LUMO}}$$

Formuldeki I iyonizasyon potansiyeli, A ise elektron afinitesini göstermektedir.

Sistemden bir elektron çıkarıldığı zamanki enerji değişimine iyonizasyon potansiyeli (I), bir elektron eklendiği zamanki enerji varyasyonuna ise elektron afinitesi (E) denir .

Elektron Afinitesi: Bir ligantın bir donör atomdan tam olarak bir elektron alma yatkınlığıdır. eigenvalue LUMO nun ters işaretlisidir.

İyonizasyon Potansiyeli: eigenvalue HOMO nun ters işaretlisidir.

Kimyasal Sertlik: Hardness ile aynı formülle hesaplanır fakat sonuç eV (electron volt) cinsinden bulunur.

Softness: Softness kimyasal reaktivitenin derecesini ölçen moleküllerin bir özelliğidir. Ayrıca Hardness in tersidir. S şeklinde gösterilir.

$$S = \frac{1}{\eta}$$

Kimyasal Potansiyel: μ şeklinde gösterilir ve aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$\mu \approx -\frac{1}{2}(I + A) \approx -\frac{1}{2}(\epsilon_{\text{HOMO}} + \epsilon_{\text{LUMO}})$$

Elektronegatiflik: Bir molekülde ki atomun elektronları kendine çekme kapasitesidir.

Kimyasal potansiyelin zıt işaretlisidir. χ şeklinde gösterilir.

$$\chi = -\mu \quad \chi = \frac{I + A}{2}$$

Elektrofilik İndeks: Donör ve akseptör arasındaki elektron alışverişi sırasında oluşan enerji azalmasının bir ölçüsüdür. (ω) şeklinde gösterilir ve aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$$

Ovality: Bir molekülün nasıl küre yada silindirik şekilde olacağının bir ölçüsüdür. Hacim ve alan oranına bakılarak aşağıdaki şekilde tanımlanır.

$$O = A / (4 \cdot \pi \cdot ((3 \cdot V) / 4 \cdot \pi)^{2/3})$$

A: alan, V: hacim, O: ovality i ifade etmektedir.

Bağ Dipol Momenti: Bir moleküldeki kimyasal bağın polarlığının bir ölçüsüdür. Bağ dipolu (μ) şu şekilde verilir:

$$\mu = \delta d$$

+ δ – δ - şeklinde gösterilen bağ dipolunda ki d kısmi pozitif ve kısmi negatif yükler arasındaki uzaklığı verir. + δ – δ - ise bağ ile paralel olan ve pozitiften negatife giden bir vektör demektir.

Nükleer yüklerin bir setteki kuantum mekanik dalga fonksiyonunun dağılması 3 yolla mümkündür. Bunlar mulliken yükler, natural yükler ve elektrostatic yükler dir.

1. **Mulliken Yük:** Standart mulliken analizini kullanarak iki atom merkezinin yoğunluk/dalga fonksiyonunu alır ikiye böler, böylece herbir bileşen atomundaki elektron bulutunun yarısı alınmış olur.
2. **Natural Yük:** Mulliken yüklere benzerdir fakat büyük setler için matematiksel hesaplamalarla daha iyi sonuçlar elde edilir. Natural ve mulliken yükler herbir atomun yükünün kimyasal reaktivitesini saptamak için kullanılan en iyi yöntemlerdir.

3. Elektrostatik Yük: Bütün dalga boylarının meydana getirdiği elektrostatik alandan yüklerin oluşturulduğu sayısal bir metottur. Molekül yada atomun elektrostatik potansiyelinin yarısı söz konusu olduğunda elektrostatik yükü kullanmak daha uygundur.

Polarizability: Polarizability yük dağılımının bağıl bir ölçüsüdür. Yani bir atom yada moleküldeki elektron bulutudur ki bu en dış elektrik alanla molekül yada atomun biçiminin bozularak iyon yada dipole yakın bir görünüme sahip olmasıyla gerçekleşir.

α ile gösterilen elektronik polarizability bir atomun indüklenmiş dipol momentinin (P), bu dipol momenti oluşturan elektrik alana (E) oranıdır.

$$P = \alpha E$$

Bağ Açısı: Bir moleküldeki üç atom arasındaki açıdır.

Torsiyon Açısı: Bir molekülde dört atomdan oluşan iki düzlem arasındaki açıdır.

Atomlar Arası Mesafe ve Bağ Mesafesi: Atomlar arası mesafe atomlar arası denge mesafesidir ve itici ve çekici güçler arasında bir denge ile oluşur. Bağ mesafesi ise kovalent olarak bağlı iki atomun çekirdekleri arasındaki mesafedir.

Bağ Derecesi: İki atom arasındaki bağ sayısı olup bağ derecesi kaçlı bağ olduğunu gösterir. Diğer bir deyişle, iki atom 2 elektron paylaşırsa tek bağ, 4 elektron paylaşırsa çift bağ, 6 elektron paylaşırsa üçlü bağ meydana gelir. Bağ derecesi arttıkça bağ uzunluğu azalır.

$$\text{Bağ derecesi} = \frac{\text{Bağ MO deki } \sigma \text{ sayısı toplamı} - \text{Karşıbağ MO } \sigma \text{ sayısı}}{2}$$

Elektronlar, kovalent bağlarda atomları bir arada tutar. Bağ derecesinin yüksekliği, daha çok elektronun bulunduğunu ve böylece atomların daha sıkıca bir arada tutulduğunu gösterir.

Dik Uzaklık: Bir moleküldeki en uzak atomun seçilen belli bir düzleme (farmakofor düzlemi) dik uzaklığıdır.(Bkz. Şekil 4.12.)

LogP: Yüklü ya da yüksüz küçük organik moleküllerdeki oktanol-su çözünme katsayısıdır. Oktan-ol-su çözünme katsayısı iki çözücü olan su ve oktanoldaki diferansiyel çözünürlüğün bir ölçüsüdür. Bu ise bir maddenin bağıl hidrofobisite ve hidrofilisitesinin bir ölçüsüdür.

İlaç benzeri maddelerin içeriğindeki moleküler büyüklük ile birlikte, dönen bağların sayısı ve hidrojen bağlarına yatkınlık, LogP değeri; absorpsiyon, biyoyararlılık, hidrofobik ilaç reseptör etkileşimi, metabolizma ve toksisite ile ilişkilidir.

Spartan hesaplamalarından sonra konformerlerin elimine edilmesi sonucu her bir bileşik için kalan konformer sayısı ve bileşiklerin deneysel aktiviteleri (-log(%inhibisyon) olarak) Tablo 4.4.' de verilmiştir.

Tablo 4.4. Serideki Bileşiklerin Konformer Sayıları ve Deneysel Aktiviteleri

No	X	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Konformer Sayısı	Deneysel Aktivite (-log(%inhibisyon))
A1	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	17	-1.40
A2	N	H	OH	H	H	OH	OH	OH	18	-1.44
A3	N	NH ₂	=O	H	H	OH	OH	OH	15	-1.56
A4	N	H	=NH	H	H	OH	OH	OH	17	-1.56
A5	N	Cl	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	16	-1.21
A6	N	NH ₂	=O	H	H	H	OH	OH	6	-1.65
A7	N	H	OH	H	H	H	OH	OH	8	-1.72
A8	N	H	NH ₂	H	H	H	OH	OH	5	-1.36
A9	N	H	NH ₂	H	H	OH	H	OH	9	-1.74
A10	N	H	NH ₂	H	H	H	H	OH	5	-1.94
A11	N	H	OH	H	H	H	H	OH	7	-2.10
A12	N	H	NHCH ₃	H	H	OH	OH	OH	15	-1.94
A13	N	H	N(CH ₃) ₂	H	H	OH	OH	OH	13	-1.13
A14	C	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	13	-1.18
A15	N	H	NH ₂	Br	H	OH	OH	OH	6	-1.32
A16	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	H	7	-1.47
A17	N	H	NH ₂	H	OH	H	OH	OH	10	-1.51
A18	N	Cl	NH ₂	H	H	H	OH	OH	5	-1.17
A19	N	F	NH ₂	H	OH	H	OH	OH	10	-1.96
A20	N	H	=O	H	H	OH	OH	OH	12	-1.88
A21	N	H	=O	H	OH	H	OH	OH	7	-2.03

Moleküler mekanik yöntemi ile yapılan konformer hesaplamalarında her bir bileşik için yaklaşık 90-100 konformer bulunmuştur. Tüm bileşiklerin gösterimi çok uzun olacağından raporda örnek teşkil etmesi amacı ile en yüksek aktiviteye sahip olan molekülün bütün konformerlerinin boltzman dağılımı ve bağıl enerji değerleri Tablo 4.5 de verilmiştir. Tablodaki relatif enerji değerleri ile boltzman dağılımları karşılaştırıldığında, relatif enerji değeri azaldıkça boltzman dağılımı değerinin arttığı görülmektedir. Relatif enerjisi 1.5 kcal/mol den büyük olanlarda bu dağılım oldukça küçük olmaktadır. Bu durum çalışmada incelenen bütün bileşikler için geçerlidir. Bu nedenle boltzman dağılımının yüksek olması oda sıcaklığında düşük enerjili olanların bulunma ihtimalinin daha fazla olduğunu gösterdiğinden literatürde verilen bilgilere göre (BERSUKER, 2003) 1.5 kcal/mol den büyük olan konformerler ihmal edilmiştir.

Tablo 4.5. A11 Bileşiğinin Bütün Konformerlerinin Boltzmann Dağılımı ve Bağıl Enerjileri

Konformer	Boltzmann Dağılımı	Bağıl Enerji (kcal/mol)
Konformer001	0.313883858	-2.32755187
Konformer012	0.255724556	-2.20613015
Konformer023	0.05972363	-1.34437606
Konformer034	0.052495573	-1.26794083
Konformer045	0.042684965	-1.14535779
Konformer048	0.035138831	-1.03008781
Konformer049	0.02711645	-0.876525026
Konformer050	0.027052416	-0.875124149
Konformer051	0.023967647	-0.803386155
Konformer002	0.019618896	-0.684755485
Konformer003	0.015859651	-0.558716316
Konformer005	0.015857737	-0.558644821
Konformer006	0.013392126	-0.458513441
Konformer004	0.013386844	-0.458279729
Konformer007	0.006984065	-0.072757788
Konformer011	0.006638059	-0.042650602
Konformer008	0.006635046	-0.042381624
Konformer013	0.006177037	0
Konformer029	0.006170881	0.000590799
Konformer009	0.00612913	0.004613332
Konformer010	0.005815228	0.035764097
Konformer014	0.004680762	0.164353539
Konformer015	0.003722779	0.30003632
Konformer028	0.003104365	0.407675357

Tablo 4.5. (Devamı) A11 Bileşiğinin Bütün Konformerlerinin Boltzmann Dağılımı ve Bağlı Enerjileri

Konformer	Boltzmann Dağılımı	Bağlı Enerji (kcal/mol)
Konformer020	0.003098893	0.408720865
Konformer016	0.003096801	0.409120911
Konformer017	0.003035923	0.420885012
Konformer019	0.002721102	0.485753916
Konformer018	0.002713183	0.487480924
Konformer024	0.001362355	0.895676741
Konformer021	0.00136172	0.895953064
Konformer027	0.001361208	0.896175621
Konformer022	0.001354005	0.899319405
Konformer025	0.000983982	1.08846229
Konformer030	0.000983955	1.08847879
Konformer026	0.000905881	1.13746406
Konformer031	0.000651109	1.33313416
Konformer032	0.000643284	1.34029823
Konformer033	0.000623072	1.35921486
Konformer035	0.00057604	1.40571848
Konformer036	0.00055172	1.43127815
Konformer039	0.00055157	1.43143914
Konformer037	0.000537199	1.44708212
Konformer038	0.000514158	1.47305783
Konformer043	8.46E-05	2.54198786
Konformer040	8.43E-05	2.54409289
Konformer041	8.03E-05	2.57330745
Konformer042	7.89E-05	2.58360484
Konformer044	4.34E-05	2.93765273
Konformer046	3.83E-05	3.01203742
Konformer047	2.41E-06	4.65057431

Kalan konformerler arasında üst üste çakıştırma işlemi (align) yapılmış ve birbirinin aynı ya da yakın enerjili olan birden fazla konformer varsa yüksek enerjili konformerler silinmiştir. Bütün moleküller için çalışılacak konformerler tespit edildikten sonra her bir konformer spartan dosyası şeklinde kaydedilerek PM3 metodu ile tekrar hesabı yapılmıştır. A11 bileşiği için eliminasyondan sonra kalan konformerlerin bağlı enerji ve Boltzmann dağılım değerleri Tablo 4.6’ da verilmiştir. Buradan görüldüğü gibi eliminasyondan sonra Boltzmann dağılım değerleri değişmiştir. Bunun nedeni Boltzmann dağılım formülüne göre molekül sayısının dikkate alınmasıdır.

Eliminasyondan önce 51 konformer dikkate alınırken eliminasyondan sonra 7 konformer kalmıştır.

Tablo 4.6. A11 Bileşiğinin Eliminasyondan Sonra Kalan Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağlı Enerji Değerleri

Konformer	Bağlı Enerji (kcal/mol)	Boltzmann Dağılımı
Konformer001	0	0.41302457
Konformer012	0.121421713	0.336495561
Konformer023	0.983175806	0.078587432
Konformer034	1.05961103	0.069076382
Konformer049	1.45102684	0.035681224
Konformer050	1.45242772	0.035596964
Konformer051	1.52416571	0.031537866

4.4. Serinin Bölünmeden Hesaplanmasından Elde Edilen Sonuçlar

Yapılan taramalar sonucunda çeşitli k_j değerlerinde sonuçlar elde edilmiş ve bu değerler Tablo 4.7.' de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Çeşitli k_j Değerlerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

Kj adedi	Parametre no	Kj değeri
7	61, 63, 64, 79, 103, 106, 109	0.00229, 0.009713, 0.045584, -0.00323, -0.18436, -0.04944, -0.06643
9	1, 2, 17, 19, 43, 65, 78, 82, 107	1.6223, 0.5014, -1.2035, 1.8586, 7.5376, -0.0678, -0.2149, 0.002024, -0.0676
10	4, 19, 24, 29, 30, 65, 78, 80, 103, 110	-1.7846, 1.2419, -6.0965, -1.2762, 0.5367, -0.0427, -0.2711, 0.1255, -0.0306, 0.08712
12	4, 5, 22, 38, 55, 71, 73, 78, 80, 91, 93, 105	-0.4934, 1.3595, 0.5177, -13.8727, -7.5746, 0.0106, -0.00151, -0.2499, 0.1018, -12.2347, -0.7846, 0.1294
14	3, 4, 41, 43, 51, 65, 67, 70, 76, 78, 79, 88, 89, 106	-1.0383, -1.2513, 1.4758, 1.5952, -0.1758, -0.0475, -0.0513, -0.0037, 5.1351, -0.2929, 0.0008, -0.0027, 4.4235, 0.0324

Tablo 4.7. (Devamı) k_j Değerlerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

Kj	Parametre No	Kj Değeri
15	31, 32, 34, 40, 43, 47, 61, 64, 79, 92, 99, 101, 103, 104, 108	5.4545, -6.6071, 0.6780, 22.5004, 26.7200, 0.2505, 0.0022, 0.0937, -0.0067, -2.3327, -1.9412, -0.0501, -0.0744, -0.0503, -0.0913
18	3, 4, 8, 11, 14, 40, 47, 53, 57, 65, 73, 78, 82, 89, 90, 91, 97, 103	-0.7001, -0.9607, 4.6531, -0.6447, 1.3806, 5.7350, 2.1347, -2.5139, -2.3393, -0.1420, 0.0001, -0.2201, 0.0032, 5.9806, 2.1059, -7.6504, -25.1510, -0.0672
20	2, 4, 7, 10, 17, 21, 26, 30, 44, 54, 57, 64, 66, 77, 79, 97, 98, 104, 108, 109	-1.0991, -0.9445, 1.4999, -11.3156, -4.7550, 1.4124, -4.1749, -1.4841, 32.2606, 1.9340, -16.2906, 0.0181, 0.1020, 0.1216, -0.0028, 32.3039, -2.3540, 0.4599, -0.1228, -0.5325

Tablo 4.6 de verilen k_j değerlerine göre hesaplanan aktivite değerleri $-\log(\%inhibisyon)$ olarak Tablo 4.8 da verilmiştir.

Tablo 4.8. k_j Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri($-\log(\%inhibisyon)$)

Bileşik No	7 kj	9 kj	10 kj	12 kj	14kj	15kj	18 kj	20kj
1	-1.4072	-1.4660	-1.3681	-1.4220	-1.4102	-1.4061	-1.3998	-1.4000
2	-1.4393	-1.4455	-1.4324	-1.4588	-1.4399	-1.4398	-1.4400	-1.4400
3	-1.5790	-1.6093	-1.6033	-1.5830	-1.5606	-1.5745	-1.5600	-1.5600
4	-1.5715	-1.5628	-1.5615	-1.5469	-1.5605	-1.5587	-1.5600	-1.5600
5	-1.3280	-1.2232	-1.1947	-1.1640	-1.2129	-1.2075	-1.2101	-1.2100
6	-1.6420	-1.6378	-1.5679	-1.6575	-1.6569	-1.6464	-1.6499	-1.6500
7	-1.5373	-1.7873	-1.7390	-1.6810	-1.7239	-1.7286	-1.7199	-1.7200
8	-1.3742	-1.2850	-1.3860	-1.3611	-1.3655	-1.3456	-1.3600	-1.3600
9	-1.7037	-1.7156	-1.7457	-1.7232	-1.7412	-1.7356	-1.7399	-1.7400
10	-1.9990	-1.9711	-1.9596	-1.9450	-1.9367	-1.9578	-1.9400	-1.9400
11	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000
12	-1.8091	-1.9219	-1.9264	-1.9240	-1.9371	-1.9478	-1.9401	-1.9399
13	-1.2852	-1.1060	-1.1363	-1.1239	-1.1249	-1.1281	-1.1300	-1.1300
14	-1.0944	-1.1797	-1.1742	-1.1871	-1.1793	-1.1775	-1.1800	-1.1800
15	-1.3196	-1.3485	-1.3204	-1.3250	-1.3193	-1.3186	-1.3200	-1.3200
16	-1.5710	-1.4358	-1.4577	-1.4704	-1.4679	-1.4670	-1.4703	-1.4700
17	-1.4588	-1.5250	-1.5060	-1.5146	-1.5127	-1.5115	-1.5099	-1.5099
18	-1.1657	-1.2015	-1.1868	-1.2054	-1.1639	-1.1783	-1.1700	-1.1699
19	-1.9795	-1.9134	-1.9609	-1.9502	-1.9570	-1.9603	-1.9601	-1.9600
20	-1.8353	-1.7783	-1.9120	-1.8651	-1.8678	-1.8711	-1.8801	-1.8799
21	-2.0530	-2.0702	-2.0340	-2.0134	-2.0320	-2.0279	-2.0301	-2.0300
R ²	0,9376	0.9800	0.9928	0.9962	0.9997	0.9994	1.0000	1.0000
Standart hata	0.0572	0.0324	0.0019	0.0142	0.0036	0.0055	6.7.10 ⁻⁵	1.1.10 ⁻⁵

4.5. Serinin Eğitim ve Test Seti Olarak Bölünerek Hesaplanmasından Elde Edilen Sonuçlar

Eğitimde kullanılan örnek setine *eğitim seti*, test için kullanılan sete ise *test seti* adı verilmektedir. Genetik algorithmada en iyi parametrelerin yani kappa değerlerinin ve regresyon katsayılarının belirlenmesi işlemine setin eğitimi denir. Başlangıç değeri olarak sıfır olacak şekilde işleme başlanarak geniş bir uzay alanında tarama yapılır. Bu taramadaki amaç uygun parametre ve kappa değerleri için doğru çıktıları üretecek değerleri bulmaktır. Bunun için defalarca iterasyon yapılır. Uygun kappa değerlerine ve regresyon katsayısının maksimum ve standart hatanın minimum olduğunda eğitim setinin uygun bir şekilde hazırlanmış olduğunu gösterir. Bu duruma eğitim setinin *öğrenmesi* denir. Setin öğrenip öğrenmediğini (performansını) ölçme yani aktivitesi bilinmeyen bileşiklerin (test setinin) aktivitesinin belirlenmesi için yapılan denemelere ise “*setin test edilmesi*” denir. Test etmek için eğitim setinde bulunmayan bileşikler kullanılır. Test etme sırasında eğitim setinde bulunan moleküler parametreler (parametrelerin sayısal değerleri değişebilir) ve kappa değerleri değiştirilmez. Eğitim setinde en küçük kareler yöntemi ile bulunan kappa değerleri kullanılır. Test örnekleri hesaplamaya tabii tutulur ve eğitim sırasında belirlenen parametreler kullanılarak daha önceden hesaba dahil edilmeyen bu örnekler için çıktılar üretilir. Elde edilen çıktıların doğruluk değerleri setin öğrenmesi hakkında bilgiler verir.

Genetik algoritma tekniğinin bu şekilde bilinen örneklerden belirli bilgileri çıkartarak bilinmeyen örnekler hakkında yorumlar yapabilme (genelleme yapabilme) yeteneğine “*Adapte olmuş öğrenme*” denir.

Yapılan taramalar sonucunda çeşitli k_j değerlerinde sonuçlar elde edilmiş ve bu değerler Tablo 4.9.’ de gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Çeşitli k_j Değerlerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

Kj adedi	Parametre no	Kj değeri
7	35, 38, 59, 61, 62, 66, 72	5.1445, -4.2213, 0.0142, 0.0025, 0.0296, 0.1885, 0.0309
9	14, 20, 47, 50, 63, 73, 97, 100, 108	-0.7066, -3.0469, 0.8193, -0.3901, 0.0135, 0.0017, -36.2563, -0.8179, -0.1263

Tablo 4.9(Devamı). Çeşitli k_j Değerlerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

kj	Parametre No	Kj Değeri
11	4, 13, 15, 29, 32, 35, 37, 53, 78, 79, 95	-2.2551, 4.9032, -0.9021, 0.3485, 0.1648, -45.5993, 2.2243, 0.0295, -0.2831, 0.0019, 3.1746,
14	1, 2, 11, 16, 18, 47, 51, 60, 61, 64, 82, 91, 95, 103	0.5938, 0.5648, 5.0641, -0.1988, 3.3827, 1.6406, -0.0012, 0.0091, 0.3672, -0.0067, 6.4060, 3.0175, -0.1254
20	1, 2, 11, 12, 16, 18, 29, 46, 47, 49, 51, 61, 64, 66, 80, 82, 85, 91, 95, 103	1.3891, -0.9192, -0.0099, 0.4691, -1.1960, -0.6079, -0.7642, 0.0081, 2.8615, 1.4336, 0.4198, 0.0061, 0.3892, 0.0271, 0.0089, -0.0074, -0.0067, 0.4202, 0.4474, -0.1080

Tablo 4.9 da verilen k_j değerlerine göre hesaplanan aktivite değerleri $-\log(\%inhibisyon)$ olarak Tablo 4.10 da verilmiştir.

Tablo 4.10. k_j Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri($-\log(\%inhibisyon)$)

7 kj		9 kj		11 kj		14kj		20 kj	
<i>eğitim</i>	<i>aktivite</i>	<i>eğitim</i>	<i>aktivite</i>	<i>eğitim</i>	<i>aktivite</i>	<i>eğitim</i>	<i>aktivite</i>	<i>eğitim</i>	<i>aktivite</i>
1	-1.4693	2	-1.5141	1	-1.3656	1	-1.4015	1	-1.4000
2	-1.4218	4	-1.5172	2	-1.4427	2	-1.4401	2	-1.4400
3	-1.5617	5	-1.2727	3	-1.5977	3	-1.5576	3	-1.5600
4	-1.5528	6	-1.5683	4	-1.4773	4	-1.5601	4	-1.5600
5	-1.1850	8	-1.3591	5	-1.1848	5	-1.2103	5	-1.2100
6	-1.6612	9	-1.6704	7	-1.6646	6	-1.6530	6	-1.6500
7	-1.7484	10	-1.9880	10	-1.8890	7	-1.7209	7	-1.7200
8	-1.3257	11	-2.1000	11	-2.1000	8	-1.3576	8	-1.3600
11	-2.1000	12	-1.9324	12	-1.9406	9	-1.7411	9	-1.7400
14	-1.2579	13	-1.2630	14	-1.2417	10	-1.9407	10	-1.9400
15	-1.3290	14	-1.1646	15	-1.3204	11	-2.1000	11	-2.1000
16	-1.3743	15	-1.3293	16	-1.4683	12	-1.9396	12	-1.9400
17	-1.5349	16	-1.5407	18	-1.1948	13	-1.1299	13	-1.1300
19	-1.7996	17	-1.5112	19	-1.9568	14	-1.1798	14	-1.1800
21	-2.0498	18	-1.0665	20	-1.9161	15	-1.3199	15	-1.3200
9	-1.6602	20	-1.6506	21	-2.0393	16	-1.4877	16	-1.5600
<i>test</i>	<i>aktivite</i>	<i>test</i>	<i>aktivite</i>	<i>test</i>	<i>aktivite</i>	<i>test</i>	<i>aktivite</i>	<i>test</i>	<i>aktivite</i>
10	-0.2913	1	-2.0120	6	-1.7945	17	-1.2353	17	-1.5476
12	-0.3565	3	-1.6941	8	-1.5221	18	-0.6265	18	-0.8107
13	-0.2221	7	-1.1235	9	-1.9465	19	-2.3196	19	-2.5570
18	-0.2201	19	-0.7061	13	-1.2182	20	-2.2624	20	-2.2836
20	-0.3011	21	-0.8962	17	-1.6315	21	-2.4337	21	-2.9660

Tablo 4.10(Devamı) kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri (- log(%inhibisyon))

Kappa Sayısı	R^2 değeri (eğitim)	R^2 değeri (test)	Standart hata (eğitim)	Standart hata (test)
7	0.9563	0.7752	0.0580	0.2370
9	0.9239	0.9197	0.0737	0.1635
11	0.9864	0.9896	0.0311	0.0601
14	0.9999	0.9732	0.0012	0.0818
20	1	0.9800	$2.98 \cdot 10^{-8}$	0.0741

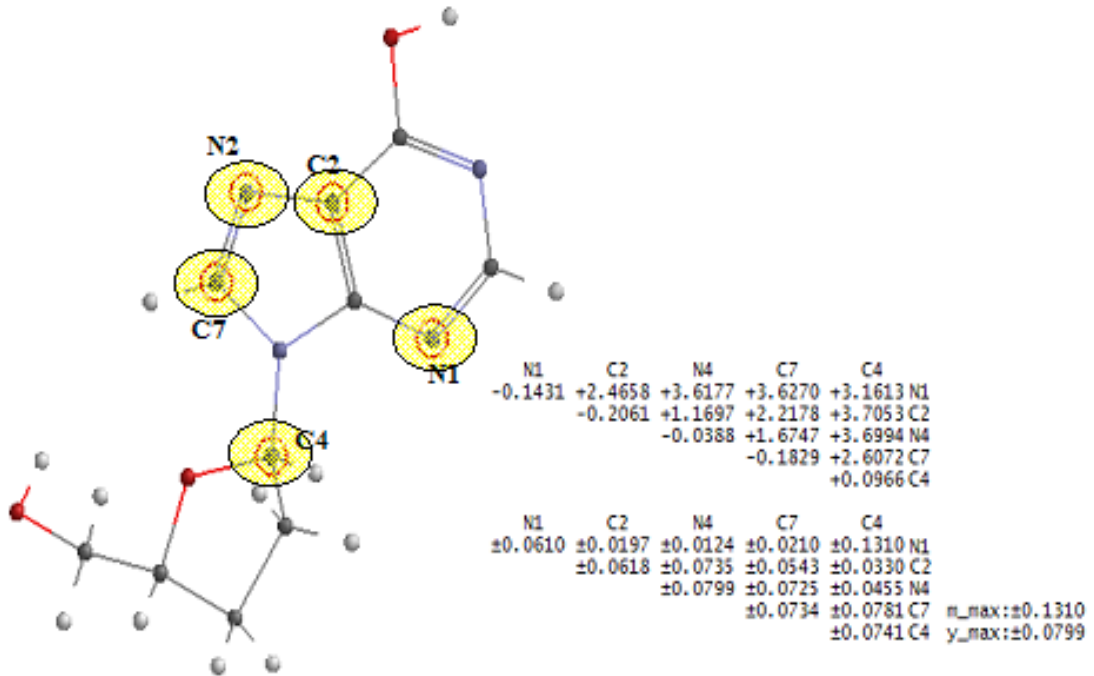
Serinin bölünerek hesaplanmasında bileşiklerden 15 tanesi eğitim seti olarak rastgele seçilmiş ve seçilen bu bileşiklerin hesap sonuçlarına göre diğer 6 bileşik teste tabi tutulmuştur. Elde edilen veriler 7, 9, 11, 14 ve 20 kappa için Tablo 4.10' da verilmiş olup diğer taramalardan elde edilen sonuçlardan bazıları ise son bölümde ele alınmıştır.

5. BÖLÜM

SONUÇ

5.1. Adenosin Türevinin Teorik Aktivite Sonuçları.

Çalışılan bu bileşik serisinde aktivitesi en yüksek olan A11 referans bileşiğine göre ECMC'lerin karşılaştırılması ile Şekil 5.1 de gösterildiği gibi N1, C2, N4, C7 ve C4 atomları farmakofor grup olarak bulunmuştur.



Şekil 5.1. Adenosin Türevleri İçin Aktif Fragmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris) ve Farmakofor Grubu Temsil Eden Atomlar.

Çalışmalarda daha önceden de belirtildiği gibi Adenosin bileşiklerinin deneysel aktivite hesaplamaları CoMCET metodu ile Eşitlik 4.2. kullanılarak serideki bileşikler bölünmeden ve ikinci olarak ise bileşik serisi eğitim ve test set şeklinde sınıflandırılarak aktivite hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Serideki bileşiklerin bölünmeden hesaplanan teorik aktiviteleri Tablo 5.1 de verilmiştir.

Tablo 5.1. Adenosin Türevlerinin 12 Kappaya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri.

No	X	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Deneysel Aktivite (-log(%inhibisyon))	Hesaplanan Aktivite (-log(%inhibisyon))
A1	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	-1.4004	-1.4220
A2	N	H	OH	H	H	OH	OH	OH	-1.4402	-1.4588
A3	N	NH ₂	=O	H	H	OH	OH	OH	-1.5643	-1.5830
A4	N	H	=NH	H	H	OH	OH	OH	-1.5656	-1.5469
A5	N	Cl	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	-1.2134	-1.1640
A6	N	NH ₂	=O	H	H	H	OH	OH	-1.6584	-1.6575
A7	N	H	OH	H	H	H	OH	OH	-1.7256	-1.6810
A8	N	H	NH ₂	H	H	H	OH	OH	-1.3648	-1.3611
A9	N	H	NH ₂	H	H	OH	H	OH	-1.7412	-1.7232
A10	N	H	NH ₂	H	H	H	H	OH	-1.9478	-1.9450
A11	N	H	OH	H	H	H	H	OH	-2.1000	-2.1000
A12	N	H	NHCH ₃	H	H	OH	OH	OH	-1.9467	-1.9240
A13	N	H	N(CH ₃) ₂	H	H	OH	OH	OH	-1.1358	-1.1239
A14	C	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	-1.1829	-1.1871
A15	N	H	NH ₂	Br	H	OH	OH	OH	-1.3290	-1.3250
A16	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	H	-1.4765	-1.4704
A17	N	H	NH ₂	H	OH	H	OH	OH	-1.5117	-1.5146
A18	N	Cl	NH ₂	H	H	H	OH	OH	-1.1728	-1.2054
A19	N	F	NH ₂	H	OH	H	OH	OH	-1.9673	-1.9502
A20	N	H	=O	H	H	OH	OH	OH	-1.8827	-1.8651
A21	N	H	=O	H	OH	H	OH	OH	-2.0372	-2.0134

Aktivite hesaplamalarında kullanılan parametre sayısının az ve R² değerinin maksimum, standart hata değerinin ise minimum olduğu durum en uygun durum olduğundan hem kimyasal açıdan en uygun parametreler hem de minimum hata ile maksimum R² değerini veren sonuçlar seçilmiştir.

CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerlerinin deneysel değerler ile genellikle uyum içinde olduğu görülmektedir. Tablo 5.1. de verilmiş olan teorik aktiviteleri hesaplamakta kullanılan moleküler parametreler ve buna bağlı olarak en küçük kareler yöntemi kullanılarak hesaplanmış k_j değerleri ise Tablo 5.2 de verilmiştir. Görüldüğü gibi aktiviteleri hesaplamak için 12 adet moleküler parametre ve k_j değeri ve A11 molekülü ise referans olarak kullanılmıştır. κ_j değerleri, $k_1=-0.4934$, $k_2=1.3595$, $k_3=0.5177$, $k_4=-13.8727$, $k_5=-7.5746$, $k_6=0.0106$, $k_7=-0.00151$, $k_8=-0.2499$, $k_9=0.1018$, $k_{10}=-12.2347$, $k_{11}=-0.7846$, $k_{12}=0.1294$ olarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucu elde edilen $a_{ni}(j)$ parametreleri ise aşağıda verilmiştir.

$$a_{ni}^{(1)}=C5$$

$$a_{ni}^{(2)}=H10$$

$$a_{ni}^{(3)}=H12$$

$$a_{ni}^{(4)}=(C7-O1 \text{ mesafe} + 1.5 \text{ \AA})$$

$$a_{ni}^{(5)}=HOMO$$

$$a_{ni}^{(6)}=\text{Polarizebilite (X)}$$

$$a_{ni}^{(7)}=\text{Polarizebilite (Y)}$$

$$a_{ni}^{(8)}=(O2-C1-N2)$$

$$a_{ni}^{(9)}=(C3-N5-C4)$$

$$a_{ni}^{(10)}=H6- (C4-N4-N1)$$

$$a_{ni}^{(11)}=H8 - (C4-N4-N1)$$

$$a_{ni}^{(12)}=O2-C1-(C4-N4-N1)$$

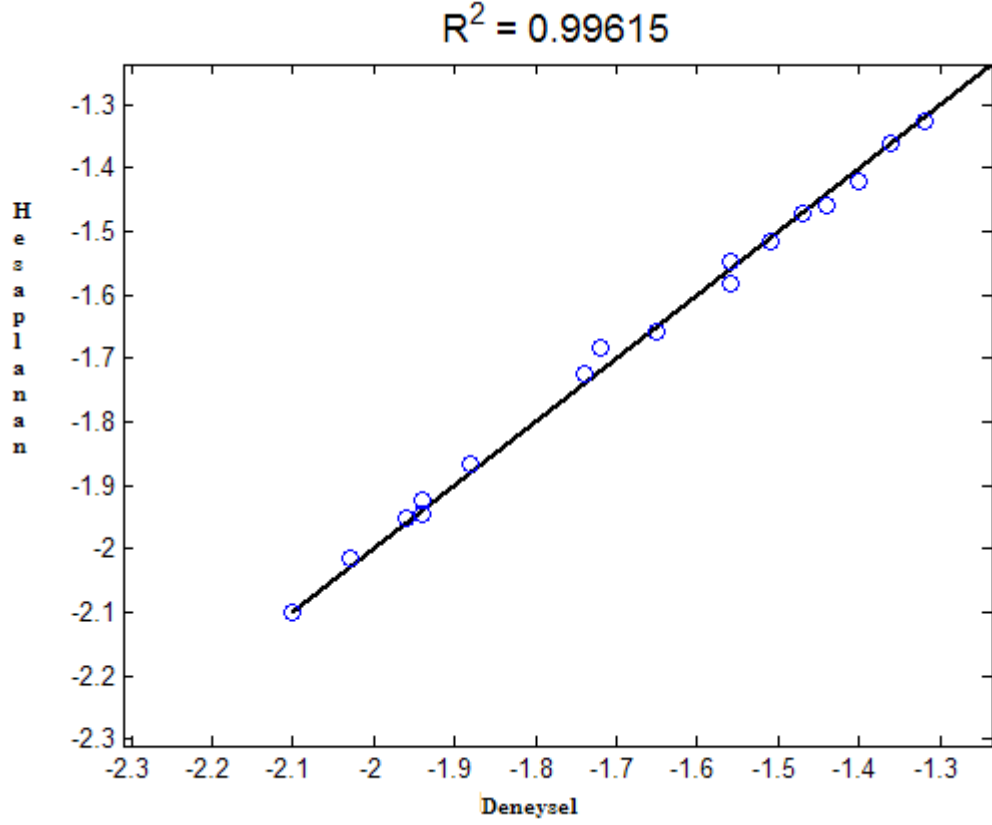
1.2.ve 3. parametre olan $a_{ni}(1)$, $a_{ni}(2)$ ve $a_{ni}(3)$ sırasıyla C5 , H10 ,H12 atomlarının mulliken yükleri, $a_{ni}(4)$ ise farmakofor atom olan C7 ile O4 atomu arasındaki mesafeye hidrojenin Van der Waals yarıçapı olan $1.5\text{\AA}$ mesafesinin eklenmiş halini göstermektedir. $a_{ni}(5)$ parametresi HOMO, $a_{ni}(6)$ ve $a_{ni}(7)$ parametreleri X ve Y düzleminde kutuplanabilirliğin bir ölçüsü olan polarizebilitiyi, $a_{ni}(8)$ ve $a_{ni}(9)$ belirtilen atomlar arasındaki derece cinsinden açığı, $a_{ni}(10)$ ve $a_{ni}(11)$ atomların C4-N4-N1

düzlemine olan dik uzaklığını, $a_{ni}(12)$ ise aynı düzlem ile O2-C1 doğrusu arasındaki açıyı göstermektedir.

Elde edilen k_j değerleri ile AG ve APS grup olarak belirlenen $a_{ni}(j)$ özellikleri kullanılarak, istatistiksel analiz sonucunda teorik aktiviteler hesaplanmıştır. Deneysel aktivite değerlerine karşı hesaplanan teorik aktivite değerleri Şekil 5.2. de gösterilmiştir. Deneysel ve teorik aktivite değerleri arasındaki korelasyon katsayısı $R^2=0.99615$ ve standart hata $se=0.0142$ olarak bulunmuştur.

Tablo 5.2. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 12 K_j Değeri ve Moleküler Parametreler

Parametre No	Moleküler Parametre	A11a Konformeri için parametrenin sayısal değeri	A11b Konformeri için parametrenin sayısal değeri	K_j Değeri
4	C5 atomu mulliken yük	0.0372	0.0248	-0.4934
5	H10 atomu mulliken yük	0.1337	0.1351	1.3595
22	H12 atomu mulliken yük	0.1953	0.1951	0.5177
38	C7-O1 mesafe+1.5(Å)	0.6522	0.6512	-13.8727
55	HOMO(eV)	-0.3462	-0.3481	-7.5746
71	Polarizebilite(X)	1.4716	-0.5915	0.0106
73	Polarizebilite(Y)	18.4992	-19.2780	-0.00151
78	O2-C1-N2 açısı	118.3169	112.8303	-0.2499
80	C3-N5-C4 açısı	125.6623	125.5566	0.1018
91	(C4-N4-N1)-H6 dik uzaklık	0.0288	0.0207	-12.2347
93	(C4-N4-N1)-H8 dik uzaklık	1.3347	1.3677	-0.7846
105	(C4-N4-N1)-O2-C1 düzlemle açı	0.2461	0.0061	0.1294
	R^2			Standart Hata
	0.9962			0.0142



Şekil 5.2. 12 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin R^2 Grafiği

Seçilen yöntemlerin ve parametrelerin uygun olup olmadığını anlamak için aktivitesi bilinmeyen ya da aktivitesi bilinen bileşikler kontrol etmek amacı ile teste tabii tutulma yoluna gidilmiştir. Bunun için serideki bileşikler iki kısma ayrılmıştır. Tablo 5.2' de serideki bileşiklerin eğitim ve test setleri olarak iki kısma ayrılması ile hesaplanan aktiviteler verilmiştir. Tablodan anlaşıldığı gibi hesaplanan teorik aktivite değerleri deneysel değerlerle uyum içerisindedir. Çalışmanın bu kısmında eğitim setinden hesaplanan k_j değerleri ve $a_{ni}(j)$ parametreleri test seti bileşiklerine uygulanmış ve bu set için aktiviteler hesaplanmıştır. Gerçekte proje yazılırken serinin bu şekilde eğitim ve test seti olarak ikiye bölünmesi gibi bir amaç yoktu ancak çalışmalar esnasında kaydedilen ilerlemeler ile test seti olarak düşünülen bileşiklerin de aktivitesinin hesaplaması gerçekleştirilmiştir.

Aktiviteleri hesaplamak için 11 adet moleküler parametre ve buna bağlı olarak 11 adet k_j değeri kullanılmıştır. Ayrıca κ_j değerleri, $k_1=-2.2551$, $k_2=4.9032$, $k_3=-0.9021$, $k_4=0.3484$, $k_5=0.1648$, $k_6=-45.5993$, $k_7=2.2243$, $k_8=0.0295$, $k_9=-0.2831$, $k_{10}=0.0019$, $k_{11}=3.1746$ olarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucu elde edilen $a_{ni}(j)$ parametreleri ise aşağıda verilmiştir.

Tablo 5.3. Adenosin Türevlerinin 11 Kappaya Göre Deneyssel ve Hesaplanan Aktiviteleri.

No	X	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Konformer Sayısı	Deneyssel Aktivite (-log(%inhibisyon))	Hesaplanan Aktivite (-log(%inhibisyon))
EĞİTİM SETİ											
A1	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	17	-1.40	-1.3656
A2	N	H	OH	H	H	OH	OH	OH	18	-1.44	-1.4427
A3	N	NH ₂	=O	H	H	OH	OH	OH	15	-1.56	-1.5977
A4	N	H	=NH	H	H	OH	OH	OH	17	-1.56	-1.4773
A5	N	Cl	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	16	-1.21	-1.1848
A7	N	H	OH	H	H	H	OH	OH	8	-1.72	-1.6646
A10	N	H	NH ₂	H	H	H	H	OH	5	-1.94	-1.8890
A11	N	H	OH	H	H	H	H	OH	7	-2.10	-2.1000
A12	N	H	NHCH ₃	H	H	OH	OH	OH	15	-1.94	-1.9406
A14	C	H	NH ₂	H	H	OH	OH	OH	13	-1.18	-1.2417
A15	N	H	NH ₂	Br	H	OH	OH	OH	6	-1.32	-1.3204
A16	N	H	NH ₂	H	H	OH	OH	H	7	-1.47	-1.4683
A18	N	Cl	NH ₂	H	H	H	OH	OH	5	-1.17	-1.1948
A19	N	F	NH ₂	H	OH	H	OH	OH	10	-1.96	-1.9568
A20	N	H	=O	H	H	OH	OH	OH	12	-1.88	-1.9161
A21	N	H	=O	H	OH	H	OH	OH	7	-2.03	-2.0393
TEST SETİ											
A6	N	NH ₂	=O	H	H	H	OH	OH	6	-1.65	-1.7945
A8	N	H	NH ₂	H	H	H	OH	OH	5	-1.36	-1.5221
A9	N	H	NH ₂	H	H	OH	H	OH	9	-1.74	-1.9465
A13	N	H	N(CH ₃) ₂	H	H	OH	OH	OH	13	-1.13	-1.2181
A17	N	H	NH ₂	H	OH	H	OH	OH	10	-1.51	-1.6513

EĞİTİM SETİ

$R^2=0.99998$

Standart Hata=0.03111

TEST SETİ

$R^2=0.98661$

Standart Hata=0.05880

$$a_{ni}^{(1)}=C5$$

$$a_{ni}^{(2)}=O1$$

$$a_{ni}^{(3)}=H8$$

$$a_{ni}^{(4)}=H9-N5$$

$$a_{ni}^{(5)}=O3-C2$$

$$a_{ni}^{(6)}=C1-N2 \text{ mesafesi} + 1.5\text{\AA}$$

$$a_{ni}^{(7)}=C7-H6 \text{ mesafesi} + 1.5\text{\AA}$$

$$a_{ni}^{(8)}=\text{Elektrofilik Endeks}$$

$$a_{ni}^{(9)}=O2-C1-N2 \text{ açısı}$$

$$a_{ni}^{(10)}=C1-C2-N4 \text{ açısı}$$

$$a_{ni}^{(11)}=N5-(C7-C2-C4)$$

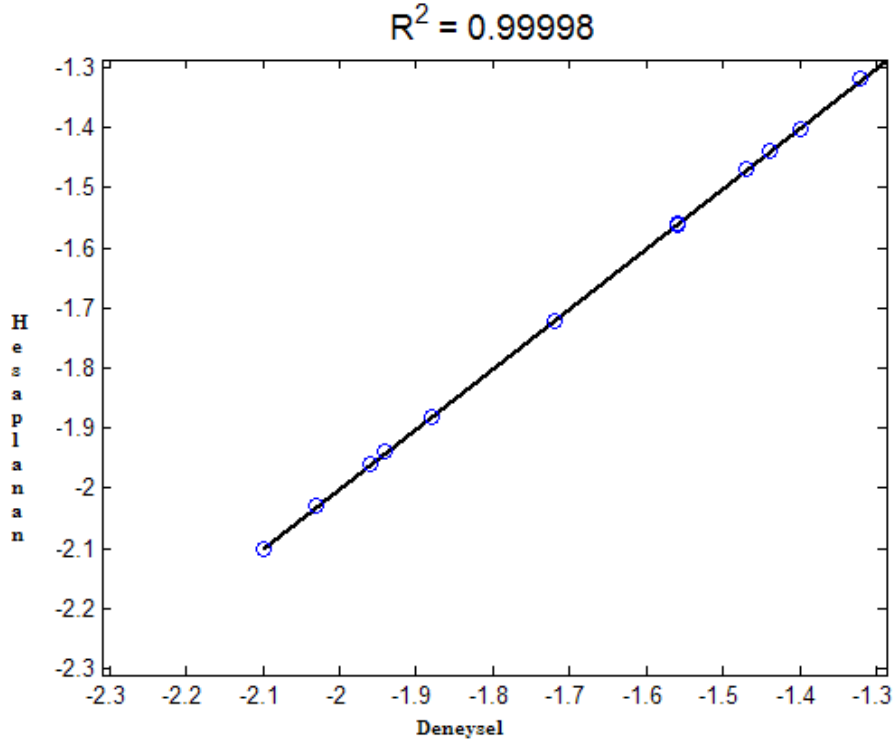
Serinin bölünerek hesaplanmasından elde edilen sonuçlarda ilk üç parametre sırasıyla C5, O1, H8 atomlarının mulliken yükleri, 4. ve 5. parametre ise H9-N5 ile O3-C2 arasındaki mesafe, 6. ve 7. parametre C1-N2 ve C7-H6 mesafelerine hidrojenin Van der Waals yarı çapı olan 1.5Å eklenmesi ile elde edile uzaklık, 9. ve 10. özellik O2-C1-N2 ve C1-C2-N4 atomları arasındaki derece cinsinden açı. Son olarak 11. özellik ise C7-C2-C4 düzlemine N5 atomunun dik uzaklığı. Elde edilen bu kj değerleri ve $a_{ni}(j)$ parametreleri ile hesaplanan aktivite değerlerinin eğitim ve test setleri için yapılan regresyon sonucunda çizilen R^2 grafiği Şekil 5.3 de verilmiştir.

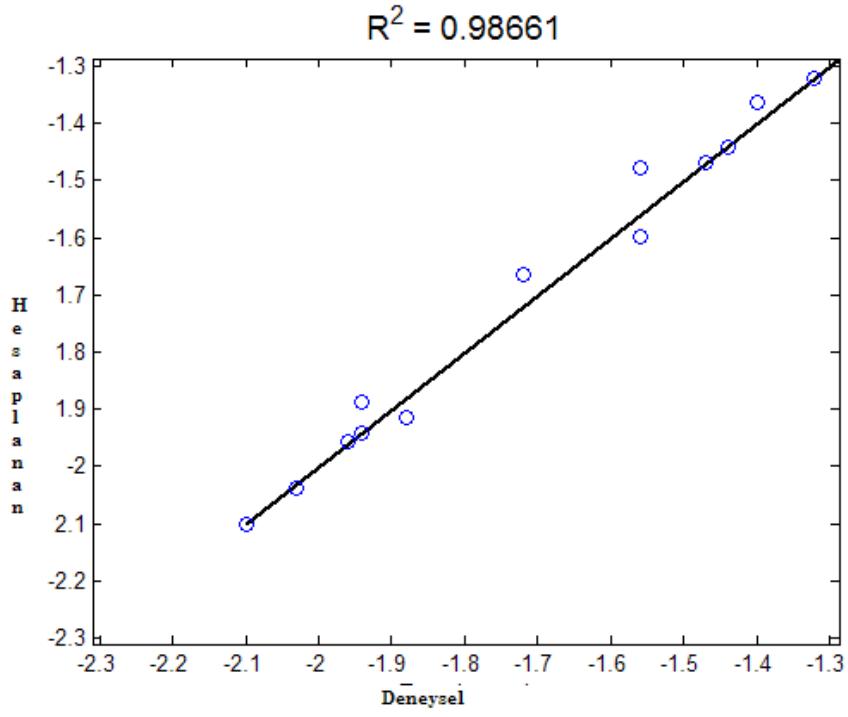
Tablo 5.4. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 11 Kj Değeri ve Moleküler Parametreler

Parametre No	Moleküler Parametre	A11a Konformeri için parametrenin sayısal değeri	A11b Konformeri için parametrenin sayısal değeri	Kj Değeri
4	C5 atomu mulliken yük	0.03685	0.02480	-2.2551
13	O1 atomu mulliken yük	-0.2641	-0.2645	4.9032
15	H8 atomu mulliken yük	0.0699	0.0707	-0.9021
29	H9-N5 mesafesi	3.3264	3.3302	0.3485
32	O3-C2 mesafesi	6.3151	6.3315	0.1648
35	C1-N2 mesafe+1.5(Å)	0.4561	0.4553	-45.5993

Tablo 5.4.(Devamı) Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 11 K_j Değeri ve Moleküler Parametreler

Parametre No	Moleküler Parametre	A11a Konformeri için parametrenin sayısal değeri	A11b Konformeri için parametrenin sayısal değeri	K _j Değeri
37	C7-H6 mesafesi+1.5(Å)	0.4150	0.4151	-2.2243
53	Elektrofilik endeks	2.7893	2.8668	0.0295
78	O2-C1-N2 açısı	118.3169	112.8303	-0.2831
79	C1-C2-N4 açısı	134.6901	134.0143	0.0019
95	(C7-C2-C4)-N5 dik uzaklığı	0.0092	0.0005	3.1746
	R ² Eğitim Seti	Standart Hata	R ² Test Seti	Standart Hata
	0.9864	0.0311	0.9896	0.0601

**Şekil 5.3. (a)** 11 K_j ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Eğitim Seti için Çizilmiş R² Grafiği

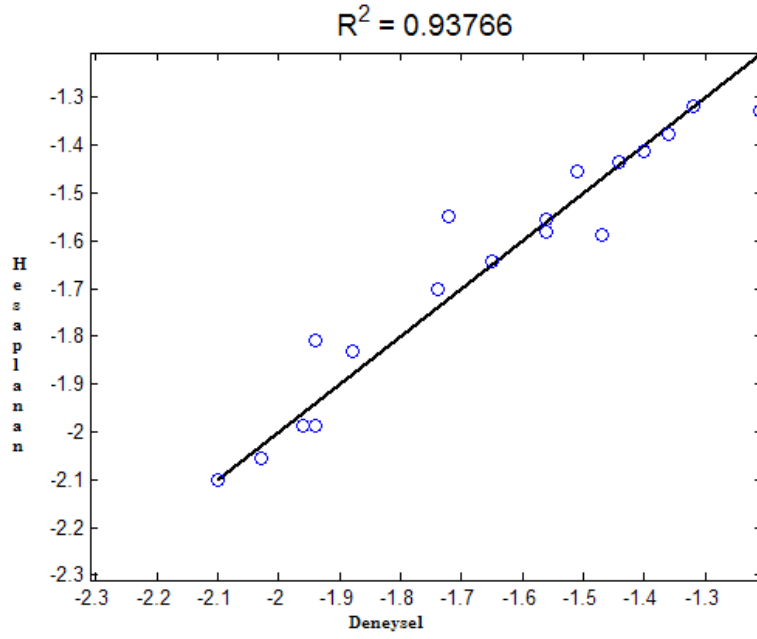


Şekil 5.3.(b) 11 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Test Seti için Çizilmiş R^2 Grafiği

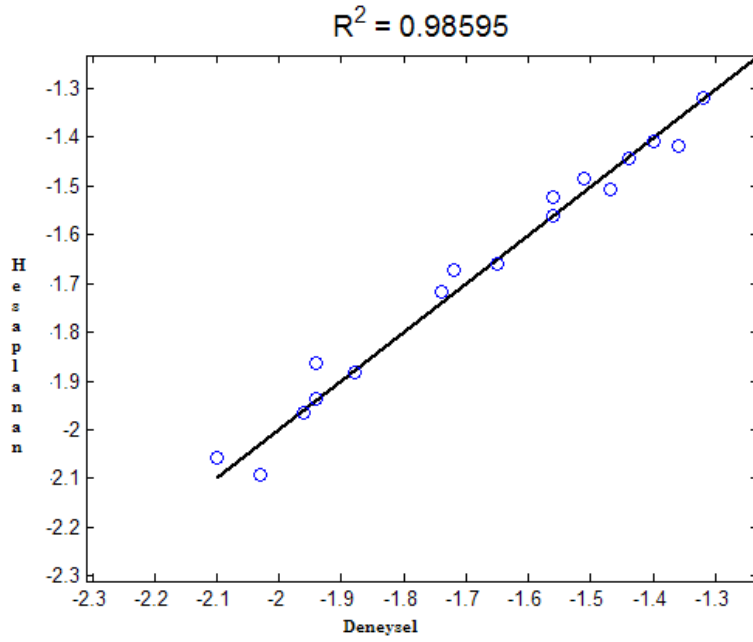
Çeşitli kapa değerleri denenerek elde edilen sonuçlar Tablo 5.5' de verilmiştir.

Tablo 5.5. Çeşitli kapa Değerlerinde Yapılan Hesaplama Sonuçları

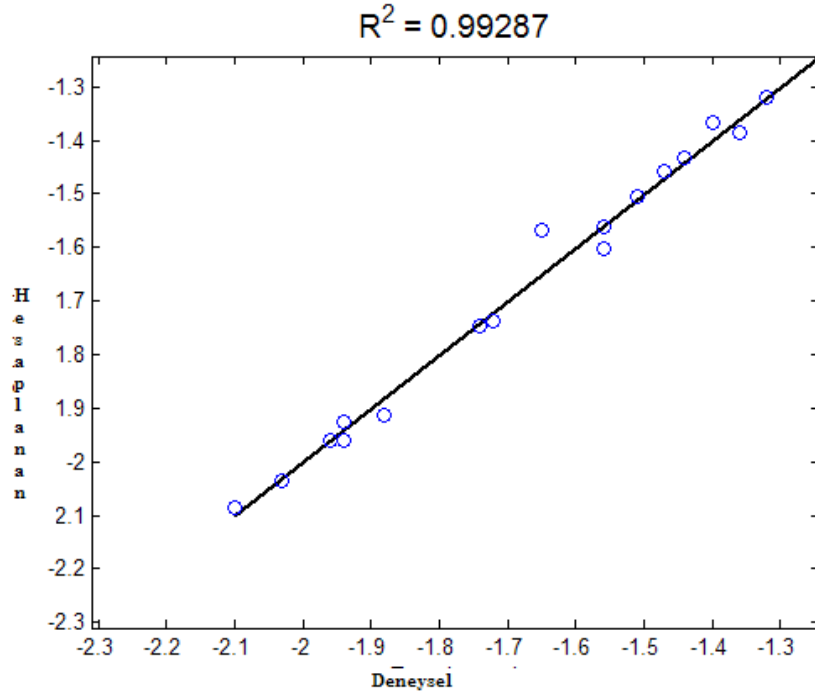
Bileşik No	7 kj	9 kj	10 kj	12 kj	13kj	14kj	15kj	17kj	18 kj	20kj
1	-1.4072	-1.4660	-1.3681	-1.4220	-1.3969	-1.4102	-1.4061	-1.4008	-1.3998	-1.4000
2	-1.4393	-1.4455	-1.4324	-1.4588	-1.4404	-1.4399	-1.4398	-1.4401	-1.4400	-1.4400
3	-1.5790	-1.6093	-1.6033	-1.5830	-1.5758	-1.5606	-1.5745	-1.5602	-1.5600	-1.5600
4	-1.5715	-1.5628	-1.5615	-1.5469	-1.5570	-1.5605	-1.5587	-1.5599	-1.5600	-1.5600
5	-1.3280	-1.2232	-1.1947	-1.1640	-1.1858	-1.2129	-1.2075	-1.2098	-1.2101	-1.2100
6	-1.6420	-1.6378	-1.5679	-1.6575	-1.6421	-1.6569	-1.6464	-1.6499	-1.6499	-1.6500
7	-1.5373	-1.7873	-1.7390	-1.6810	-1.7105	-1.7239	-1.7286	-1.7199	-1.7199	-1.7200
8	-1.3742	-1.2850	-1.3860	-1.3611	-1.3712	-1.3655	-1.3456	-1.3594	-1.3600	-1.3600
9	-1.7037	-1.7156	-1.7457	-1.7232	-1.7377	-1.7412	-1.7356	-1.7402	-1.7399	-1.7400
10	-1.9990	-1.9711	-1.9596	-1.9450	-1.9313	-1.9367	-1.9578	-1.9395	-1.9400	-1.9400
11	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000	-2.1000
12	-1.8091	-1.9219	-1.9264	-1.9240	-1.9363	-1.9371	-1.9478	-1.9397	-1.9401	-1.9399
13	-1.2852	-1.1060	-1.1363	-1.1239	-1.1130	-1.1249	-1.1281	-1.1299	-1.1300	-1.1300
14	-1.0944	-1.1797	-1.1742	-1.1871	-1.1967	-1.1793	-1.1775	-1.1801	-1.1800	-1.1800
15	-1.3196	-1.3485	-1.3204	-1.3250	-1.3233	-1.3193	-1.3186	-1.3200	-1.3200	-1.3200
16	-1.5710	-1.4358	-1.4577	-1.4704	-1.4602	-1.4679	-1.4670	-1.4703	-1.4703	-1.4700
17	-1.4588	-1.5250	-1.5060	-1.5146	-1.5144	-1.5127	-1.5115	-1.5099	-1.5099	-1.5099
18	-1.1657	-1.2015	-1.1868	-1.2054	-1.1938	-1.1639	-1.1783	-1.1702	-1.1700	-1.1699
19	-1.9795	-1.9134	-1.9609	-1.9502	-1.9621	-1.9570	-1.9603	-1.9601	-1.9601	-1.9600
20	-1.8353	-1.7783	-1.9120	-1.8651	-1.8809	-1.8678	-1.8711	-1.8792	-1.8801	-1.8799
21	-2.0530	-2.0702	-2.0340	-2.0134	-2.0232	-2.0320	-2.0279	-2.0304	-2.0301	-2.0300
R ²	0,9376	0.9800	0.9928	0.9962	0.9988	0.9997	0.9994	0.9999	1.0000	1.0000
Standart hata	0.0572	0.0324	0.0019	0.0142	0.0083	0.0036	0.0055	0.00059	6.7.10 ⁻⁵	1.1.10 ⁻⁵



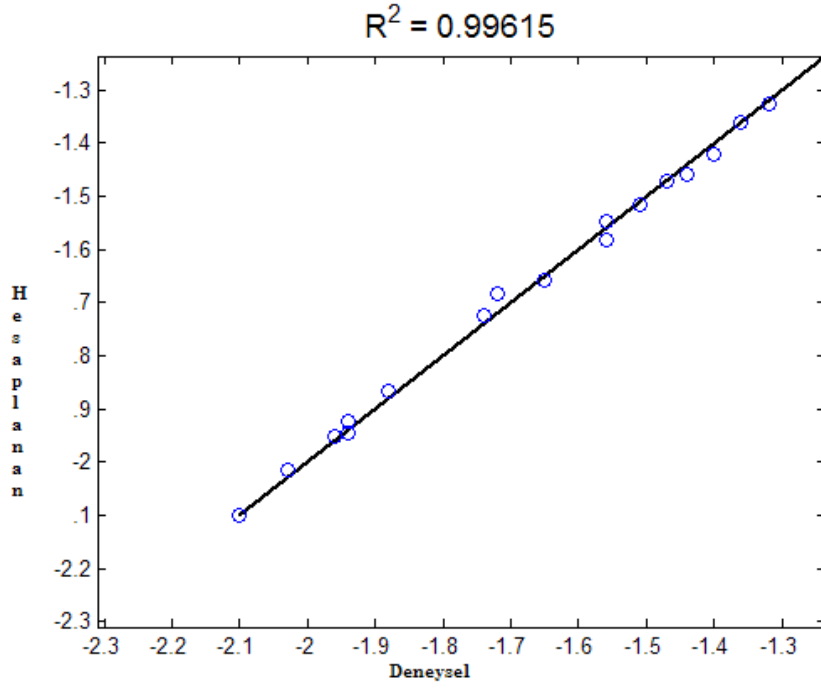
Şekil 5.4. 7 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



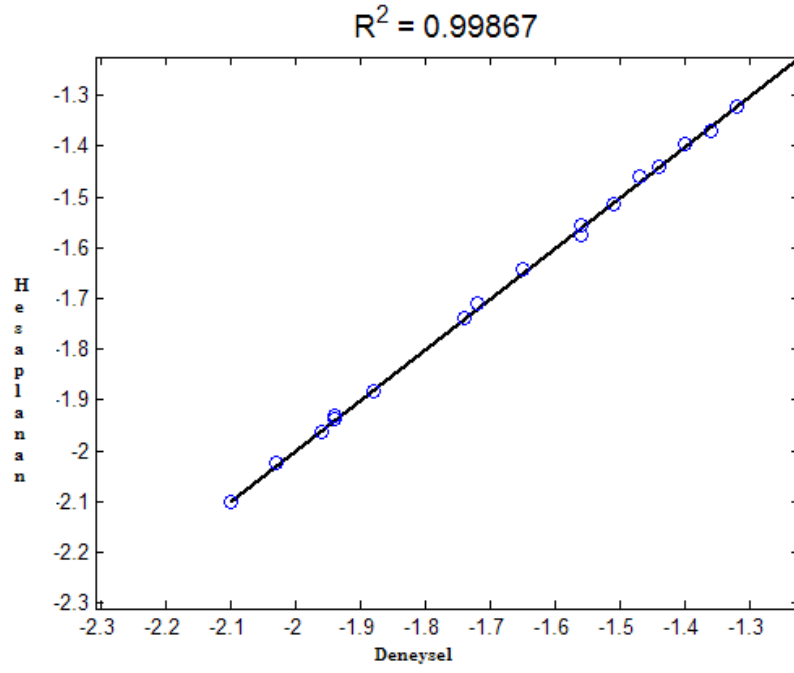
Şekil5.5 9 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



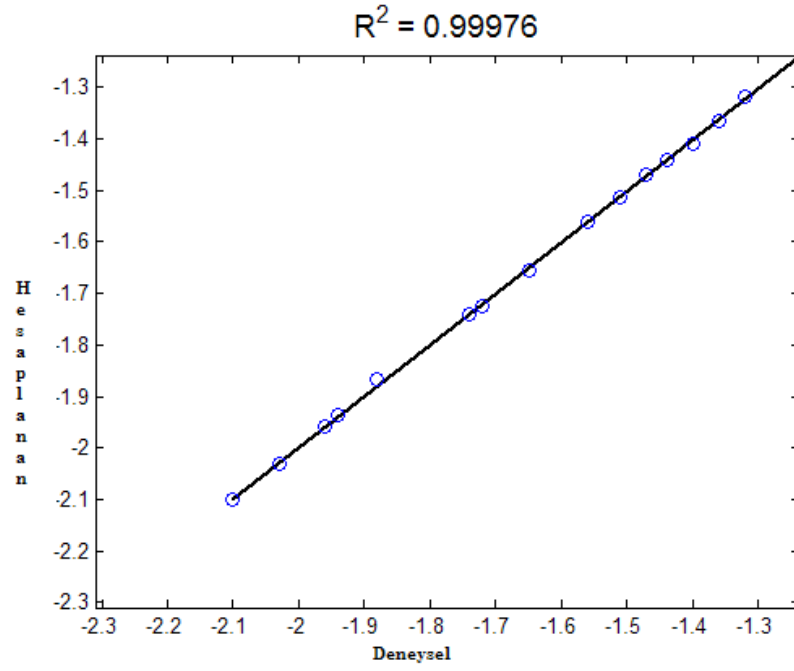
Şekil 5.6. 10 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



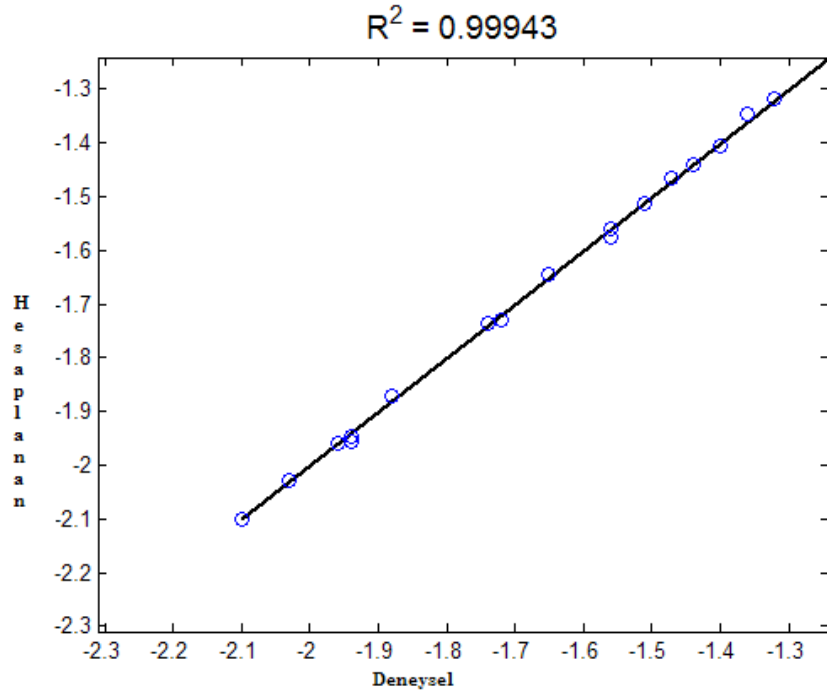
Şekil 5.7. 12 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



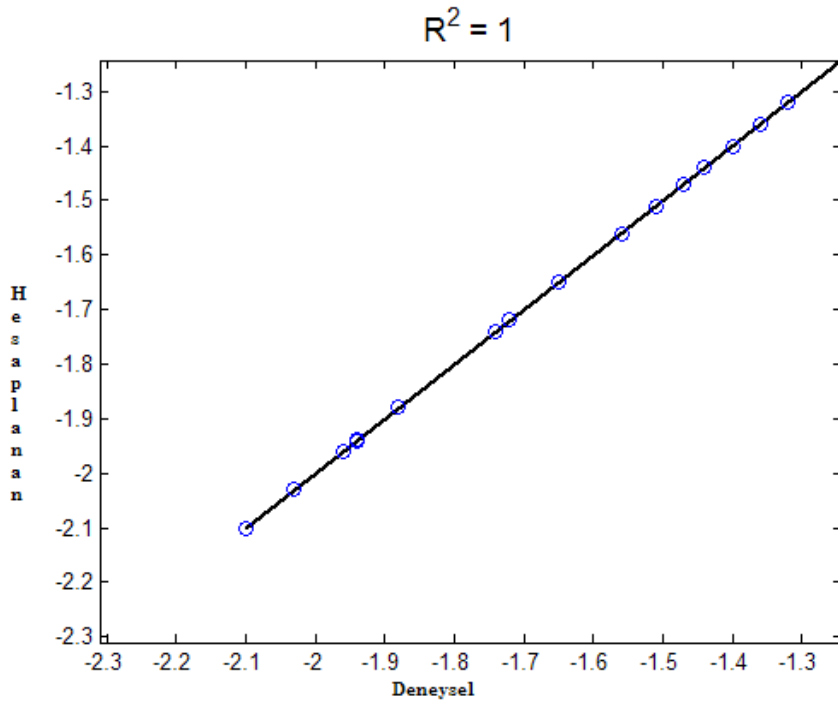
Şekil 5.8. 13 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



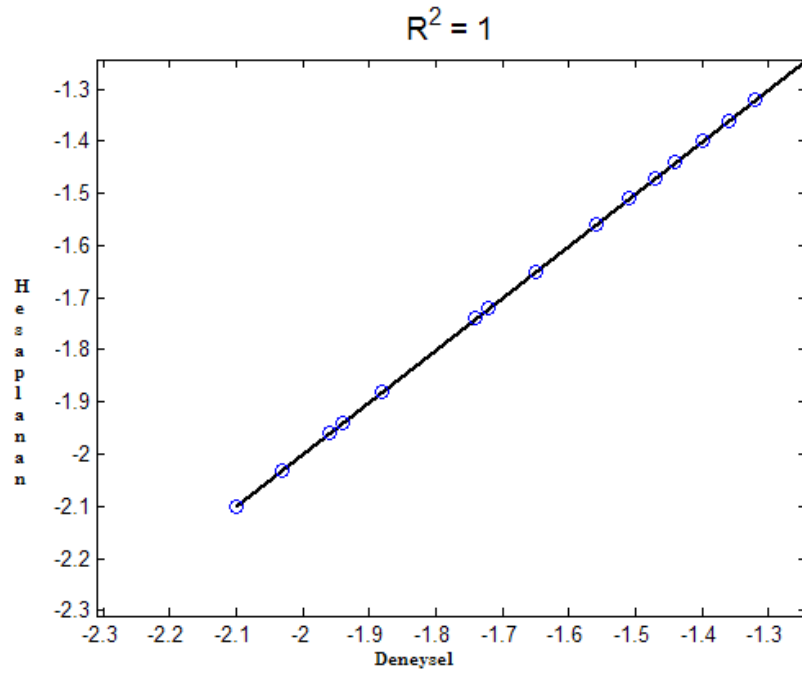
Şekil 5.9. 14 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



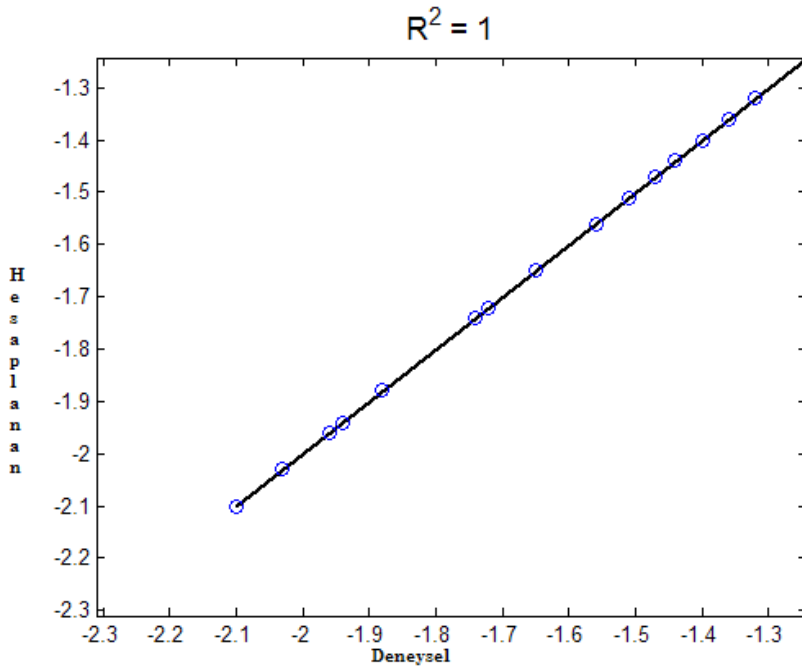
Şekil 5.10.15 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



Şekil 5.11.17 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



Şekil 5.12. 18 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği



Şekil 5.13. 20 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Çizilmiş R^2 Grafiği

Bu çalışma CoMCET metodu olarak isimlendirildiği gibi genetik algoritma sayısal optimizasyon tekniğinin yoğun ve başarılı bir şekilde kullanılmasından dolayı Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma Metodu olarak da isimlendirilebilir. Bu metod Adenosin bileşiklerinin aktivite tahmini ve Pha grubunun belirlenmesi için etkili bir metot olduğu anlaşılmıştır. Sonuçlar kantitatif aktivite tahminini sağlayan bu metodun başarılı bir yöntem olduğunu göstermektedir. Bu metod ile moleküler ve elektronik yapıların bütün özellikleri ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Seçilen bu parametrelerin hazırlanan 110 değişken içerisinde hem test seti olmaksızın yapılan hesaplamalarda hem de test seti ile yapılan hesaplamalarda en iyi parametreler olduğuna karar verilmiştir.

Ayrıca bu çalışmada 21 adet bileşiğin aktivite hesaplamaları ile birlikte EMRE 1.2, ECSP 1.0 ve MATLAB 7.04 paket programında genetik algoritma optimizasyon tekniğini kullanarak aktivite hesaplaması yapan yeni bir kod olmak üzere üç farklı yazılım geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yazılımlar sadece bu seri için değil biyolojik aktivitesi hesaplanmak istenilen diğer sayı sınırlaması olmaksızın bileşik içeren her türlü seri için de kullanılabilir. Geliştirilmiş olan bu programların piyasada mevcut olan diğer programlardan farkı konformerlerin de moleküler parametrelerinin hazırlanıp aktivite hesaplamalarında kullanıyor olmasıdır. Bu seride yer alan 21 bileşik ve bu bileşiklere ait 221 konformerin hepsi için bu programların başarı ile uygulandığı yukarıdaki verilerden görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Fujita, T., Et al, The role of QSAR in Drug Design, Eds, Academic Press, London, 1984.
2. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to The QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and á-Chymo-Trypsin, In QSAR in Drug Design and Toxicology, ed: Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Vol:10, Elsevier,Amsterdam, (1987), pp:43-48.
3. Hopfinger, A. J., Tokarski, J. S. Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Practical Application of Computer-Aided Drug Design', Charifson, P. S., Ed., Marcel Dekker, New York, pp 105-164. , 1997.
4. Oprea, T. I., Waller, C. L. Theoretical and Practical Aspects of Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry', Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Eds., Wiley-VCH, New York, Vol. 11, pp 127-182. , 1997.
5. <http://www.newdrugdesign.com>.
6. <http://netsci.org/scgi-bin/Courseware/Drugs/Intro/top.html>
7. Richards W. G., Computer Aided Drug Design, Pure Appl. Chem., 66, 8, 1589-1596, 1994. http://www.msd.com.hk/health_info/drug_education/e_ddp_introduction.html
8. http://www.msd.com.hk/health_info/drug_education/e_ddp_introduction.html
9. Şener, E. A., Yalçın İ., Farmasötik/Medisinal Kimyada İlaç Etken Madde Tasarım Yöntemleri-1 Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri Analizleri (QSAR), Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara 2002, 2-10.
10. Türk Farmakoloji Derneği Klinik Farmakoloji Çalışma Grubu Elektronik Bülteni www.tfd.org.tr/kfcg.html Sayı: 1 Ocak-Nisan 2005
11. Roberto, G., et. al., Computer-Assisted Drug Development (CADD): An Emerging Technology for Designing First-time-in-man and Proof-of-Concept Studies from Preclinical Experiments, J. Pharm. Sci. 13, 261–270, 2001.
12. McCarthy, D. J., Computational Approaches to Structure-Based Ligand Design, Pharmacology & Therapeutics, 84, 179–191,1999
13. <http://vizyon2023.tubitak.gov.tr/teknolojiongorusu/paneller/raporozet/saglik.pdf>

14. Allen B. Richon, An Introduction to Molecular Modeling, *Mathematech*, 1, 83, 1994
15. Zahid, M.A.H., Mittal, A., Joshi, R.C., [A pattern recognition-based approach for phylogenetic network construction with constrained recombination](#), *Pattern Recognition*, 39 (12), p.2312-2322, Dec 2006
16. Wang, S., Lu, H., Zhao, Y., Mostofi, R., Young Kim, H., Yin, L. , [Numerical study of coal particle cluster combustion under quiescent conditions](#), *Chemical Engineering Science*, 62 (16), p.4336-4347, Aug 2007
17. The Cancer Council Victoria www.cancervic.org.au January 2004
18. <http://www.kanser.org/toplum/knedir.php>
19. Fırat D, Çelik İ . Cancer Statistics in Turkey and in the World (1993-1995). Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu, ANKARA , 1998
20. <http://fred.hmc.psu.edu/ds/retrieve/fred/meshdescriptor/D013329>
21. http://www.medicalglossary.org/structureactivity_relationship_quantitative_structureactivity_relationship_definitions.html
22. Kubinyi, H., From Narcosis to Hyperspace: The History of QSAR, *Quant.Struct.-Act.Relat.*, 21, 348-356, 2002
23. QSAR and Drug Design, Bevan R.D.Department of Biochemistry and Anaerobic Microbiology Virginia Polytechnic Institute and State University Blacksburg,USA,http://www.biochem.vt.edu/courses/modeling/qsar_drug.html June, 2000.
24. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H. Computer-Assisted Molecular Design (CAMD), An Overview. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 26, 403-418, 1987.
25. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H. Computer-Assisted Molecular Design (CAMD), An Overview. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 26, 403-418, 1987.
26. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html
27. Perkins, R., Fang, H., Tong, W., Welsh, W. J. Quantitative Structure-Activity Relationship Methods: Perspectives on Drug Discovery and Toxicology, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 22, No. 8, 2003.
28. Debnath, A. K., Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Paradigm – Hansch Era to New Millennium, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 1, 187-195 187, 2001.

29. Kubinyi, H., QSAR and 3D QSAR in Drug Design vol 2, 457-467, 11 Nov 1997
30. Kubinyi, H., "QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches", Vol. 1 of "Methods and Principles in Medicinal Chemistry", R. Mannhold et al., Eds., VCH, Weinheim, 1993.
31. Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A.A., Çalış, Ü., Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol, D.D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak C., Farmasötik kimya Ankara, 2000.
32. David, R., Tripos, L., HQSAR A New, Highly Predictive QSAR Technique, Inc. Tripos Technical Notes, Vol 1, No. 5
33. Zheng, W., Cho, S. J., Tropsha, A., Rational Combinatorial Library Design.1. Focus-2D: A New Approach to the Design of Targeted Combinatorial Chemical Libraries, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 38 (2), 251 -258, 1998.
34. Zheng, W., Cho, S. J., Tropsha, A., Rational Combinatorial Library Design. 2. Rational Design of Targeted Combinatorial Peptide Libraries Using Chemical Similarity Probe and the Inverse QSAR Approaches, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 38 (2), 259 -268, 1998.
35. Gao, H., Lajiness, M.S., Van Drie J., Enhancement of Binary QSAR Analysis by a GA-Based Variable Selection Method, J. Mol. Graph. Model., 20(4), 259-68, 2002
36. Labute, P., A New Method For the Determination of Quantitative Structure Activity Relationships, Pac. Symp. Biocomput., 444, 1999
37. Gao, H., Williams, C., Labute, P., Bajorath, J., Binary Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Analysis of Estrogen Receptor Ligands J. Chem. Inf. Comput. Sci., 39, 164, 1999
38. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D-QSAR Drug Design Recent Advances Volume 3, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
39. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.htm
40. Kubinyi, H., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA), BASF AG, D-67056 Ludwigshafen, Germany
41. Van De Waterbeemd, H. R., Carter, E., Grassby, G., Kubinyi, H., Martin, Y.C., Tute, M. S., Willett, P., International Union Ofpure and Applied Chemistry and

Human Health Division Medicinal Chemistry Section Glossary of Terms Used Incomputantional Drug Design, 1997

42. Mishra, H., Parrill, A. L., Williamson, J. S., Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship and Comparative Molecular Field Analysis of Dipeptide Hydroxamic Acid Helicobacter pylori Urease Inhibitors Antimicrobial Agents and Chemotherapy, August, 46(8), 2613-2618, 2002
43. Hasegawa K., Arakawa, M., Funatsu, K., Rational Choice of Bioactive conformations Through Use of Conformation Analysis and 3-Way Partial Least Squares Modeling, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 50, 253-261, 2000.
44. Richon, A. B., Young, S. S., Network Science An Introduction to QSAR Methodology <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature19.html> October, 1997
45. Klebe, G., "Comparative Molecular Similarity Indices: CoMSIA." 3D QSAR in Drug Design, Kubinyi, H.; Folkers, G.; Martin, Y. C. (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Great Britain, 3, 87, 1998
46. Hou, T., Li, Y., Liao, N., Xu, X., Three-Dimension Quantitative Structure-Activity Relationship Analysis of Some Cinnamamides Using Comparative Molecular Similarity Indices Analysis (CoMSIA), J. Mol. Model., 6, 438 – 445, 2000,
47. Silverman, B. D., Platt, D. E., Comparative Molecular Moment Analysis (CoMMA): 3D-QSAR without Molecular Superposition, J. Med. Chem., 39 (11), 2129 -2140, 1996.
48. Ferguson, A. M., Heritage, T., Jonathon, P., et al. "EVA: A new theoretically based molecular descriptor for use in QSAR/QSPR analysis." J. Comp.-Aided Mol. Des., 11, 143, 1997.
49. Todeschini, R., Lasagni, M., Marengo E., J.Chemometrics, 8, 263 – 272, 1994,
50. Vedani, A., Briem, H., Dobler, M., Dollinger, H., McMasters, D. R., J. Med. Chem., 43, 4416, 2000.
51. http://www.genomicglossaries.com/content/molecular_modeling_gloss.asp
52. Smith, C., "Molecular Modeling - Seeing the Whole Picture with Modeling Software Packages", Scientist, 12(17), 31, 1998.

53. Gund, T., Molecular Modelling of Small Molecules. In Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design, Cohen, N.C., Ed., 55-92, Academic Press, New York, 1996.
54. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Eds., Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
55. Kubinyi, H., 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Ed., ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.
56. Hopfinger, A.J., Tokarski, J.S. Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Practical Application of Computer-Aided Drug Design, Charifson, P.S., Ed., 105-164, Marcel Dekker, New York, 1997.
57. Oprea, T.L., Waller, C.L., Theoretical and Practical Aspects of Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B., Eds., 11, 127-182, Wiley-VCH, New York, 1997.
58. Greco, G., Novellino, E., Martin, Y.C., Approaches to Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B., Eds., 11, 183-240, Wiley-VCH, New York, 1997.
59. Finn P. W., Kavraki, L. E., Computational Approaches to Drug Design, Springer-Verlag New York Inc. Algorithmica, 25, 347–371, 1999.
60. Mason, J. S., Good, A. C., Martin, E. J., 3-D Pharmacophores in Drug Discovery Current Pharmaceutical Design, 7, 567-597, 2001.
61. Tropsha, A., Zheng, W., Identification of the Descriptor Pharmacophores Using Variable Selection QSAR: Applications to Database Mining, Current Pharmaceutical Design, 7, 599-612, 2001.
62. Bersuker, I. B., Bahceci, S., Boggs, J. E., Improved Electron- Conformational Method of Pharmacophore Identification and Bioactivity Prediction -Application to Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors Journal of Chemical Information and Computer Sciences, 40, 1363-1376, 2000
63. Bersuker I. B., Pharmacophore Identification and Quantitative Bioactivity Prediction Using the Electron-Conformational Method [Current Pharmaceutical Design](#), 9, (20), 1575-1606, 2003.

64. Marshall, G.R., Molecular Modeling in Drug Design. In Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Principles and Practice, 5th ed., Wolff, M.E., Ed., 1, 573-659, John Wiley, New York, 1995.
65. Ghose, A.K., Wendoloski, J.J. Pharmacophore Modelling, Methods, Experimental Verification and Applications. In 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., Eds., Vol.2, pp 253-271, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
66. Wermuth, C.G., Langer, T. Pharmacophore Identification. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Kubinyi, H., Ed., Vol.1., pp 117-136, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.
67. Glonder, V. E., Vorpagel, E.R. Computer-Assisted Pharmacophore Identification. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Kubinyi, H., Ed., Vol. 1. pp 137-149, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993
68. Doucet, J.P., Weber, J. Computer-Aided Molecular Design, Theory, and Applications, pp 364-404, Academic Press, San Diego, 1996
69. Application in Chem-X Lead Generation I. Automatic Pharmacophore Identification for a Set of Compounds, Chemical Ltd, Oxon, UK, 1995
70. Pearlman, R.S. 3D Molecular Structures, Generation and Use in 3D Searching. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Application, Kubinyi, H., Ed., Vol.1. pp 41-79, ESCOM, Leiden, 1993
71. Bersuker I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu. , Vlad, P.F., Pesaro, M. Origin of Musk Fragrance Activity, The Electron-Topological Approach. New J. Chem. 15, 307-320, 1991.
72. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V. Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma. Die Nahrung- Food 33, 405-411, 1989
73. Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Bersuker, I.B., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Stepanova, O.V., Lukash, E.Yu. Structural and Electronic Origin of Meat Odour of Organic Hetero-Atomic Compounds. Die Nahrung- Food 32, 461-473, 1988
74. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Vlad, P.F., Koltsa, M.N. Structural and Electronic Origin of Odour Properties of Organic Compounds as Revealed by the Electron-Topologic Approach to the QSAR Problem. In QSAR

- in Drug Design and Toxicology, Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Eds., Vol.10, pp 340-342, Elsevier, Amsterdam, 1987.
75. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to the QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and α -Chymo-Trypsin. In QSAR in Drug Design and Toxicology, Hadzi, D., Jerman-Balzic, B., Eds., Vol.10, pp 43-48, Elsevier, Amsterdam, 1987.
 76. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to Structure-Activity Relationships. Inhibition of Thymidine Phosphorylase by Uracil Derivatives. *Bioogan. Khim.* 13, 38-44, 1987.
 77. Dimoglo, A.S., Bersuker, I.B., Popa, D.P., Kuchkova, K.I. Electron-Topological Study of Plant Growth-Regulator Activity in a Series of Analogs of Absciscic Acid. *Theor. Eksp. Khim.* 5, 590, 1989.
 78. Guzel, Y., Saripinar, E., Yildirim. I. Electron-Topological(ET) Investigation of Structure- Antagonist Activity of a Series of di benzo[a,d] cycloalkenimines. *J.Mol.Struc. (Theochem)* 418, 83-91, 1997.
 79. Guzel, Y. Investigation of the Relationship Between the Inhibitory Activity of Glycolic Acid Oxidase and its Chemical Structure, Electron- Topological Approach. *J. Mol. Structure. (Theochem)* 366, 131-137, 1996.
 80. Dimoglo, A.S., Beda, A.A., Shvets, N.M., Gorbachov, M.Yu., Kheifits, L.A., Aulchenko, I.S. Investigation of the Relationship Between Sandalwood Odor and Chemical Structure, Electron- Topological Approach. *New J. Chem.* 19, 149-154, 1995.
 81. Dimoglo, A.S., Vlad, P.F., Shvets, N.M., Koltsa, M.N., Güzel, Y., Saracoğlu, M., Saripinar, E., Patat, S. Electron-Topological Investigations of the Relationship Between Chemical Structure and Ambergris Odor, *New J. Chem.* 19, 1217-1226, 1995.
 82. Bersuker, I.B., Bahceci, S., Boggs, J.E., Atomic Index of Charge and Orbital Controlled Intermolecular Interaction in Molecular Modeling for QSAR in Drug Design, 219, 594, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000
 83. Bersuker I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu. , Vlad, P.F., Pesaro, M. Origin of Musk Fragrance Activity, The Electron-Topological Approach. *New J. Chem.* 15, 307-320, 1991.

84. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V. Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma, *Die Nahrung- Food* 33, 405-411, 1989.
85. Bersuker, I.B.; Bahceci, S.; Boggs, E.J.; Pearlman, R.S. An Electron-Conformational Method of Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding Application of Rice Blast Activity, *J. Compund-Aided Mol. Des.* 13, 419-434, 1999
86. Bersuker, I.B; Bahceci, S.; Boggs, E.J.; Pearlman, R.S. A Novel Electron Conformational Approach to Molecular Modeling for QSAR by Identification of Pharmacophore and Anti- Pharmacophore Shielding. *SAR and QSAR in Env. Res.* 10, 157-173, 1999.
87. Bersuker, I.B., *Current Pharmaceutical Design*, 2003, 1575-1606
88. Kieber JJ (Cytokinins. In CR Somerville, EM Meyerowitz, eds, [www.aspb.org/publications/arabidopsis/ The Arabidopsis Book] American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, doi: 10.1199/tab.0009, 2002.
89. Mok, DWS and Mok, MC., Cytokinin metabolism and action, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52: 89-118, 2001.
90. Bersuker, I. B., Bahceci, S., Boggs, J. E., *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 40, 1363-1376, 2000
91. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to The QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylas and á-Chymo-Trypsin, In *QSAR in Drug Design and Toxicology*, ed: Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Vol:10, Elsevier,Amsterdam, (1987), pp:43-48
92. Tropsha, A., Zheng, W., Identification of the Descriptor Pharmacophores Using Variable SelectionQSAR: Applications to Database Mining, *Current Pharmaceutical Design*, 7, 599-612, 2001.. 5. Finn P. W., Kavraki, L. E., *Computational Approaches to Drug Design*, Springer-Verlag New York Inc. *Algorithmica*, 25, 347–371,1999
93. Mason, J. S., Good, A. C., Martin, E. J., 3-D Pharmacophores in Drug Discovery *Current Pharmaceutical Design*, 7, 567-597, 2001.
94. Bersuker, I. B., Bahceci, S., Boggs, J. E., [Improved Electron- Conformational Method of Pharmacophore Identification and Bioactivity Prediction](#) -Application

to Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors Journal of Chemical Information and Computer Sciences, 40, 1363-1376, 2000 ,

95. Marshall, G.R., Molecular Modeling in Drug Design. In Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Principles and Practice, 5th ed., Wolff, M.E.,Ed., 1, 573-659, John Wiley, New York, 1995.
96. Ghose, A.K., Wendoloski, J.J. Pharmacophore Modelling, Methods, Experimental Verification and Applications. In 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., Eds., Vol.2, pp 253-271, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
97. Wermuth, C.G., Langer, T. Pharmacophore Identification. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Kubinyi, H., Ed., Vol.1., pp 117-136, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993
98. Glonder, V. E., Vorpapel, E.R. Computer-Assisted Pharmacophore Identification. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Kubinyi, H., Ed., Vol. 1. pp 137-149, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.
99. Doucet, J.P., Weber, J. Computer-Aided Molecular Design, Theory, and Applications, pp 364-404, Academic Press, San Diego, 1996.
100. Kurt, M., Semetay, C., Genetik Algoritma ve Uygulama Alanları
101. Biroğul, S., Genetik Algoritma Yaklaşımıyla Atölye Çizelgeleme, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2005, Ankara.
102. Uçaner, M. E., Özdemir, O. N., Genetik Algoritmalar İle İçme Suyu Şebekelerinde Ek Klorlama Optimizasyonu, Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der., 17, 157-170, 2002
103. Arifoğlu, U., Matlab Simulink ve Mühendislik Uygulamaları, ALFA Basım Yayım Dağıtım Ltd. Şti., İstanbul, Ağustos 2005

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yücel YAZAR

Baba Adı : Zübeyir

Anne Adı : Rabia

Doğum Yeri : Kayseri

Doğum Tarihi : 05-11-1983

İlk, orta ve lise öğrenimini Kayseri’de tamamladı. Yüksek öğrenimini Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2005 de mezun oldum 2005 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

Adres: Esenyurt Mah. Özge Sok. No: 15/4 Melikgazi / KAYSERİ

Tel: 0-536 768 94 56